

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

**ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⵎⵉⵔⵉⵜ ⵜⴰⵏⵓⵣⵓⵣⵉⵜ
Département de Biochimie Microbiologie**



MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

**En vue de l'obtention du diplôme de Master en
Microbiologie Appliquée**

Filière : Sciences Biologiques

**Option : Microbiologie
Appliquée**

Thème

Étude de la colibacillose aviaire dans la région de Tizi-Ouzou

Présenté par :

M^{lle} BENMECHEDAL Dalia

M^r KABICHE Amine

Promoteur : M^r MSELA Amine

Membres de Jury :

Grade :

♦ **Présidente de jury : Mme MEGUENI.N**

MCA

♦ **Examinatrice : Mme YOUSFLS**

MCA

♦ **Promoteur : M^r MSELA.A**

MCB

♦ **Co-Promoteur : Mme IZERGHOUF.T**

Doctorante

Année universitaire 2023-2024

Résumé

Notre travail était consacré à l'étude des Colibacilloses aviaires au niveau de la région de Tizi Ouzou (Freha) sur une durée de trois mois du mois de Février au Mai 2024, et nous avons obtenu les résultats suivants :

45 % de nos échantillons étaient positifs, à la recherche de la colibacillose aviaire. La plupart des élevages touchés étaient ceux dont les sujets avaient plus de 30 jours (50%), situé dans les bâtiments en dur (85%) et avec un effectif de plus de 2000 sujets.

La majorité des souches d'*Escherichia coli* étaient résistantes à plus de deux antibiotiques, et les molécules les plus touchées étaient l'amoxicilline, l'ampicilline et la tétracycline.

L'étude de l'activité antibactérienne des huiles de Pin et de Sauge a révélé une résistance des souches testées vis-à-vis ces huiles.

Pour cela, et afin de réduire la prévalence de cette maladie, il est recommandé de respecter les règles sanitaires et de réaliser un antibiogramme avant chaque traitement.

-Mots-clés : Antibiogramme, Antibiotiques, Colibacillose, *Escherichia coli*, Tizi Ouzou

Abstract

Our work was about the in-depth study of avian colibacillosis in the Tizi Ouzou (Freha) region during aduration three months from February to May 2024, and we obtained the following results:

45% of our samples were positive for avian colibacillosis. Most of the affected poultry production werethose where the subjects were over 30 days old (50%), located in solid buildings (85%) and with a population of more than 2000 subjects.

The most of *Escherichia coli* subtypes were resistant to more than two antibiotics, and the most affected molecules were amoxicillin, ampicillin and tetracycline.

The study of the antibacterial activity of 2 kinds of oil showed a resistance of bacteria against these oils.

For this reason, and for the purpose of reducing the frequency of this infection, it is advisable to respectthe sanitary rules and realize an antibiogram before each treatment.

Key words: Antibiogram, Antibiotics, Colibacillosis, *Escherichia coli*, Tizi Ouzou.

EL HAMDOUNILLAH

*Nous remercierons **Dieu**, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la Volonté et la patience de mener à terme ce travail.*

On souhaite adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

*Nous tenons tout particulièrement à adresser non plus vifs remerciements à notre promoteur **Mr MSELA Amine** pour l'aide et le temps qu'il nous a consacré, pour avoir porté un regard critique ouvert et constructif sur notre travail.*

*Ainsi qu'à notre Co-promotrice **IZARGHOUF.T** nous sommes très reconnaissants de l'honneur que vous avez accordé en acceptant de CO encadrer notre travail grâce à la clarté de vos explications nous avons pu accroître nos connaissances mais surtout aimer davantage le domaine de la biologie.*

*On tient à remercier vivement les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail, Madame **MEGUENI.N** professeur à l'UMMTO, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance, notre reconnaissance va aussi aux membres de jury madame **Yousfi.S** qui nous ont fait l'honneur de contribuer à l'examen de notre modeste travail.*

On exprime aussi notre gratitude à tous les enseignants ayant contribué à notre formation durant tout notre cycle d'études.



Je dédie ce mémoire

À mes chers parents rien n'égale votre patience sur vos encouragements et votre prière pour moi tout au long de mon parcours, m'ont toujours Donner de la force pour prospérer dans la vie si je suis arrivé là aujourd'hui c'est bien grâce à vous que dieu vous donne longue vie et vous protège pour moi.

*À mon frère **ILYAS** et ma sœur **Yasmine** je vous souhaite une longue vie plein de succès, de santé et de joie que dieu vous garde auprès de moi.*

*À mes cousins **SAMY, MAYES** et **Mahdi** à mes amis **KARIM, OUSSAMA, SIDALI** et **NOREDINE** et à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et qu'ils ont partagé avec moi tous les moments d'émotion.*

K.Amine

Louange à Dieu le tout puissant, qui m'a donné la force de réaliser ce travail et de vivre ce jour tant attendu.

Je dédie ce modeste travail à

Ma chère Maman

Sache que sans toi je ne pourrais jamais en arriver là. Quoi que je dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit pour ton aide, ton écoute, ta bienveillance et ta présence à mes côtés.

Tu es et tu resteras toujours ma source de motivation. Merci Maman.

Mon cher Papa

Tu as toujours été pour moi un exemple de père respectueux, honnête. Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence. Ce travail est le fruit de tes sacrifices. Tu as tout fait pour que je sois ce que je suis aujourd'hui. Merci Papa.

L'accomplissement de ce travail est grâce à vous. Merci beaucoup chers parents.

A mes très chers frères Amine et Nabil

A tous les moments d'enfances qu'on a passés ensemble. Je dédie ce travail aux meilleurs frères au monde afin de vous remercier pour vos encouragements, et votre soutien dans les moments difficiles tout au long de mon parcours.

A mes amies Kamelia, Fatima et Sonia, à tous les moments de joie et de peine que nous avons vécu ensemble.

Dalia

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

| | |
|----------------------------|---|
| Introduction général | 1 |
| Objectif d'étude..... | 2 |

Partie bibliographique

Chapitre 1: Généralités sur *Escherichia coli*

| | |
|--|---|
| I Historique | 3 |
| II Définition | 3 |
| III Classification | 3 |
| IV Habitat | 4 |
| V Caractère bactériologique | 4 |
| V.1 Caractère biochimique | 4 |
| V.2 Caractère culturaux | 5 |
| V.2.1 Sur milieu Mac Conkey | 5 |
| V.2.2 Sur milieu Hecktoen | 6 |
| V.3 Dans un bouillon nutritif | 7 |
| V.4 Caractère antigénique | 7 |
| VI Pouvoir pathogène | 8 |
| VI.1 Pouvoir pathogène chez l'homme | 8 |
| VI.2 Pouvoir pathogène chez l'animal | 9 |
| VII Facteurs de virulences..... | 9 |

Table des matières

Chapitre 2 : La colibacillose aviaire

| | |
|--|----|
| I Définition | 10 |
| II Les problèmes causés par la colibacillose sur l'élevage | 10 |
| III. Résistance aux antibiotiques..... | 10 |
| III.1 Généralité sur les antibiotiques | 10 |
| III.2 La résistance aux antibiotiques | 11 |
| III.2.1 résistance naturelle | 11 |
| III.2.2 résistance acquise | 11 |
| IV. Les micro-organismes indicateurs de résistance aux antibiotiques | 11 |
| IV.1 Méthode phénotypique de la détection de la résistance aux antibiotiques | 11 |
| IV.2 Méthode génotypique de détection de résistance aux antibiotiques | 11 |
| V Mécanisme de résistance de <i>Escherichia coli</i> aux différentes familles d'antibiotiques..... | 12 |
| V.1 Résistance au beta lactamine | 12 |
| V.2 Résistance aux quinolones | 12 |
| V.3 Résistance à la fosfomycine | 12 |
| V.4 Résistance à la tétracycline | 13 |
| VI Diagnostic | 13 |

Partie expérimentale

| | |
|-------------------------------|----|
| I Problématique | 14 |
| II Objectifs de l'étude | 14 |
| III Matériel et méthode | 14 |
| III.1 Lieu de stage | 15 |

Table des matières

| | |
|--|----|
| III.2 Fiche d'enquête | 15 |
| III.3 Collecte des prélèvements | 15 |
| III.4 Méthode de collecte de prélèvements | 16 |
| IV Au laboratoire | 16 |
| IV.1 Matériel utilisé | 16 |
| IV.2 Techniques utilisées..... | 16 |
| IV.2.1Pré enrichissement | 16 |
| IV.2.2 Enrichissement | 17 |
| IV.2.3 Isolement | 17 |
| IV.2.4 Purification | 19 |
| IV.2.5 Étude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)..... | 20 |
| IV.2.5.1 Réalisation d'une suspension et mesure de la DO..... | 20 |
| IV.2.5.2 Réalisation de l'antibiogramme | 20 |
| IV.2.5.3 Lecture de résultats | 21 |
| IV.2.6 Étude de la sensibilité aux huiles essentielles (aromatogramme) | 21 |
| IV.2.6.1. Résultats de l'aromatogramme..... | 22 |
| V Résultats | 21 |
| V.1 Résultats selon la présence de <i>Escherichia coli</i> | 23 |
| V.2 Résultats selon la présence de multi résistance | 24 |
| V.3 Résultats selon l'enquête | 25 |
| V.4 Résultat selon la mortalité | 26 |
| V.5 Résultat selon l'espèce | 26 |
| V.6 Résultat selon l'effectif | 27 |
| V.7 Résultat selon le type de bâtiment | 27 |

Table des matières

| | |
|--|----|
| V.8 Résultat selon le type de sol | 28 |
| V.9 Résultat selon la réalisation de la désinfection..... | 29 |
| V.10 Résultat selon la réalisation du vide sanitaire..... | 29 |
| V.11 Résultat selon le type de production..... | 30 |
| V.12 Résultat selon la résistance aux antibiotiques | 31 |
| V.13 Résistance selon la famille d'antibiotiques..... | 32 |
| V.14 Résultats selon l'âge et la résistance aux antibiotiques..... | 33 |
| V.15 Profil de sensibilité des souches aux antibiotiques..... | 34 |
| Discussion | 36 |
| Conclusion | 38 |

Références bibliographiques

Listes des annexes :

Annexe N°1 : Questionnaire

Annexe N°2: Matériel utilisé

Annexe -3-: Photos des matériaux utilisés

Annexe -4- : Méthodes utilisées

Liste des abréviations

APEC : Avian pathogenic *Escherichia coli*

BLSE : Béta- lactamases à spectre étendu

BHIB : bouillon brin heart infusion

CLSI : Clinical and laboratory Standards institute

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DO : densité optique

EPEC : *Escherichia coli* enteropatogenic

EIEC : *Escherichia coli* entéro-invasif

KPC : Chromagar

LDC : lysine-décarboxylase

MH : mueller-Hinton

OXA : Gelose chromID

VP : Voges-Proskauer

-Les abréviations des antibiotiques :

AMC : Amoxicilline/ Acide clavulanique

AML : Amoxicilline

IMP : Imipeneme

AMP : Ampicilline

ETP : Ertapénème

ATM : Aztréonam

CTX : Céfotaxime

FOX : céfoxitine

CRO : Ceftriaxone

CAZ : Céftazidime

CN : Céfalexine

CFM : Céfixime

TOB : Tobramycine

AK : Amikacine

Liste des abréviations

TE : Tétracycline

CT : Colistine

SXT : triméthoprim - sulfaméthoxazole

NA : Acide nalidixique

CIP : Ciprofloxacine

LEV : Lévofloxacine

PRL : Pipéracilline

C : chloramphénicol

FF : Fosfomycine

CFP : Céfopérazone

FEP : Céfépime

Liste des tableaux

Tableau-1- : Classification de *Escherichia coli* selon Bergey's Manuel.

Tableau-2- : Caractères morphologiques de *Escherichia coli*.

Tableau -3- : Certaines caractéristiques biochimiques de l'espèce *Escherichia coli*.

Tableau-4-: Caractères antigéniques de *Escherichia coli*.

Tableau -5- : Profil de sensibilité des souches aux antibiotiques.

Liste des figures

Figure -1- : *Escherichia coli* sur milieu Mac Conkey

Figure-2- : *Escherichia coli* sur milieu Hecktoen

Figure-3- : Département de science biologiques et des sciences agronomiques

Figure-4- : Localisation de la région de Freha

Figure -5- : Ecouvillons des organes

Figure-6-: Matériel utilisé pour l'enrichissement

Figure-7-: Matériel utilisé pour l'isolement

Figure-8-: Matériel utilisé pour l'isolement

Figure-9-: Matériel utilisé pour la préparation de la suspension bactérienne

Figure-10- : Matériel utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme

Figure-11-: Matériel utilisé pour la réalisation d'un aromatoigramme

Figure-12- : Aromatoigramme des souches d'*Escherichia coli* en utilisant l'huile de Sauge

Figure-13- : Aromatoigramme des souches d'*Escherichia coli* en utilisant l'huile de Pin

Figure-14- : Résultats selon la présence de *Escherichia coli*.

Figure-15- : Résultat selon la présence de multirésistance.

Figure-16- : Résultat selon l'enquête.

Figure-17- : Résultats selon la mortalité.

Figure-18- : Résultats selon l'espèce

Figure-19- : Résultats selon l'effectif

Figure-20- : Résultats selon le type de bâtiment

Figure-21- : Résultat selon le type de sol

Figure-22- : Résultats selon la réalisation de la désinfection

Figure -23- : Résultats selon la réalisation du vide sanitaire

Figure-24- : Résultats selon le type de production

Figure -25- : Résultat selon la résistance aux antibiotiques.

Figure -26- : Résultat selon la résistance aux familles d'antibiotiques.

Figure -27- : Résultats selon l'âge résistance aux antibiotiques

Figure 28: Profil de sensibilité des souches aux antibiotiques

Figure-29- : Séchoir

Figure-30- : Crayotubes

Figure-31- : Étiquettes

Figure-32- : Eau peptonée temponée

Figure-33- : Tubes de conservation

Figure-34- : Flacon d'eau physiologique

Figure-35- : Flacon contenant de la gélose Hecktoen

Figure -36-: *Escherichia coli* vu sous microscope optique.

Figure -37-: Résultats de l'aromatogramme.

Figure -38-: Un exemple de boîteensemencée

Introduction :

La colibacillose aviaire est une maladie d'origine bactérienne, elle est considérée comme une pathologie dévastatrice et est jugée comme une menace en production avicole en Algérie et dans le monde entier ; par le fait qu'elle provoque des pertes économiques gigantesques vu le taux de morbidité et de mortalité élevés qu'elle cause au sein des élevages avicoles et l'augmentation des coûts préventifs et curatifs. (Messai *et al.*,2023) .

L'agent causal de la colibacillose aviaire est la bactérie *Escherichia coli* pathogène (APEC) via sa présence dans la poussière et son inhalation puis son introduction dans les voies respiratoires de l'animal en question. (Messai *et al.*,2023 ; Stordeur *et al.*,2001)

Cette souche appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, et fait partie de la flore commensale du tube digestif des homéothermes, elle devient pathogène si le système immunitaire de l'hôte est compromis. (Messai *et al.*,2023 ; Rafat *et al.*,2021)

La baisse de la sensibilité des souches de *Escherichia coli*, autrement dit sa résistance antimicrobienne est un vrai problème pour les humains ainsi que pour les animaux, et cela par la transmission des gènes de résistance indirectement (par les aliments) ou directement par le contact avec les animaux. L'émergence de ce phénomène d'antibiorésistance est très inquiétante, d'où la recherche des moyens de lutte contre cette multirésistance est devenu indispensable. (Aberkane *et al.*,2023)

L'aromatogramme est une technique utilisée *in vitro* pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles. Ils existe différents types d'aromatogrammes ; en milieu solide et en milieu liquide (El amri *et al.*,2014)

Notre travail était de rechercher des *Escherichia coli* multi résistantes associés à des épisodes cliniques

- Pour celà, nous nous sommes fixés durant notre étude pratique d'une durée de 3 mois à :
 - Rechercher caractériser les souches d'*Escherichia coli* associées à des épisodes cliniques.
 - Etudier leurs profils de sensibilités aux antibiotiques.

- Pour enrichir notre recherche, on a opté pour une technique très utilisée en microbiologie qui est l'aromatogramme pour évaluer l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles (huile de Pin et l'huile de sauge)

*Mais notre **Objectif d'étude principal** est de*

Déterminer le pourcentage de colibacillose présent au niveau des élevages en Algérie.

*Chapitre I : Généralités sur
Escherichia coli*

I-Historique :

Escherichia coli a été décrite pour la première fois en 1885 par le célèbre pédiatre allemand Theodor Escherich .Ce dernier a trouvé cette bactérie dans les selles d'un enfant souffrant d'une diarrhées sévère. (Mainil.,2013)

Vient ensuite l'année 1893, ou un vétérinaire Danois a considérée *Escherichia coli* comme une espèce au sein de laquelle existe des souches pathogènes et non pathogènes. (Mainil.,2013)

II-Définition :

Escherichia coli est une bactérie gram (-) se présentant sous forme de bâtonnet. Elle est considérée comme l'espèce type du genre *Escherichia* et fait partie de la famille des entérobactéries. (Joly *et al.*,2002)

Cette bactérie est présente dans l'eau où elle est considérée comme souche indicatrice de contamination fécale. Sans oublier sa présence dans l'environnement ainsi que chez l'humain dont certains sérotypes peuvent causer des maladies. (Jang *et al.*,2017)

Pour cela l'étude approfondie de l'écologie de cette bactérie est cruciale afin de se méfier de la propagation de cette souche dans le sol, les aliments et l'eau. (Jang *et al.*,2017)

III-Classification :

Tableau-1- : Classification de *Escherichia coli* selon (Bergey's Manuel.,2012)

| Règne | Bacteria |
|---------|-------------------------|
| Phylum | Proteobacteria |
| Classe | Gammaproteobacteria |
| Ordre | Enterobactériaes |
| Famille | Enterobacteriaceae |
| Genre | Escherichia |
| Espèce | <i>Escherichia coli</i> |

IV-Habitat

Escherichia coli peut survivre dans divers hôtes et aussi dans l'environnement. Cette capacité d'adaptation a été acquise par la diversité de son génome. Cette bactérie peut cohabiter avec l'être humain et donc survivre sous forme commensale ou pathogène. Elle peut aussi adapter un cycle pathogène au sein des cellules aviaires. (Nabors *et al.*,2023)

V-Caractères bactériologiques : *Escherichia coli* possède divers caractères morphologiques. (Joly *et al.*,2002)

Tableau-2- : Caractères morphologiques de *Escherichia coli* (Nassik *et al.*, 2021 ; Joly *et al.*,2002)

| Caractères morphologiques de <i>Escherichia coli</i> | | | | | | | |
|--|---------------------|---------------------|----------|---------|--------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Forme microscopique | Type de respiration | Formation de spores | Longueur | Largeur | Mobilité | Présence de capsule | Aspect macroscopique |
| Bâtonnets | Aéro-anaérobies | Asporulées | 2 à 3 µ | 0,6 µ | Mobiles par une ciliature péritriche | Peu de souches sont capsulées | Rondes plates à bords réguliers |

V-1-Caractères biochimiques :

Escherichia coli est une bactérie qui détient des caractères biochimiques propres à elle permettant de se particulariser des autres espèces de son genre. (Joly *et al.*,2002)

Tableau -3- : Certaines caractéristiques biochimiques de l'espèce *Escherichia coli*. (Joly *et al.*,2002)

| Test biochimique | Comportement de <i>Escherichia coli</i> |
|---|---|
| Citrate de Simmons | (-) |
| VP | (-) |
| Production d'indole à partir du tryptophane | (+) |

| | |
|---|-----|
| Production de gaz lors de la consommation du glucose | (+) |
| Uréase | (-) |
| LDC | (+) |
| Oxydase | (-) |
| H₂S | (-) |
| Mannitol | (+) |
| Catalase | (+) |
| Fermentation de lactose | (+) |

(-) : absence de production

(+) : présence de production

V-2-Caractères cultureux :

Le colibacille est une bactérie facilement cultivable ; elle croît dans un milieu de croissance minimal. Autrement dit à une température de 37°C ,et un Ph de 7. Elle croît dans divers milieux nutritifs d'où elle tire son aspect. (Nassik *et al* .,2021)

V-2-1-Sur milieu Mac Conkey:

La plupart des colonies de *Escherichia coli* ont un aspect lisse et transparent, avec une couleur rose. (Nassik *et al.*, 2021)



Figure -1- : *Escherichia coli* sur milieu Mac Conkey (Ajay Kumar Chaurasiya.,2020)

V.2.2. Sur milieu Hecktoen :

Les colonies apparaissent à bords régulier et avec une couleur dorée. (Nassik *et al*.,2021)

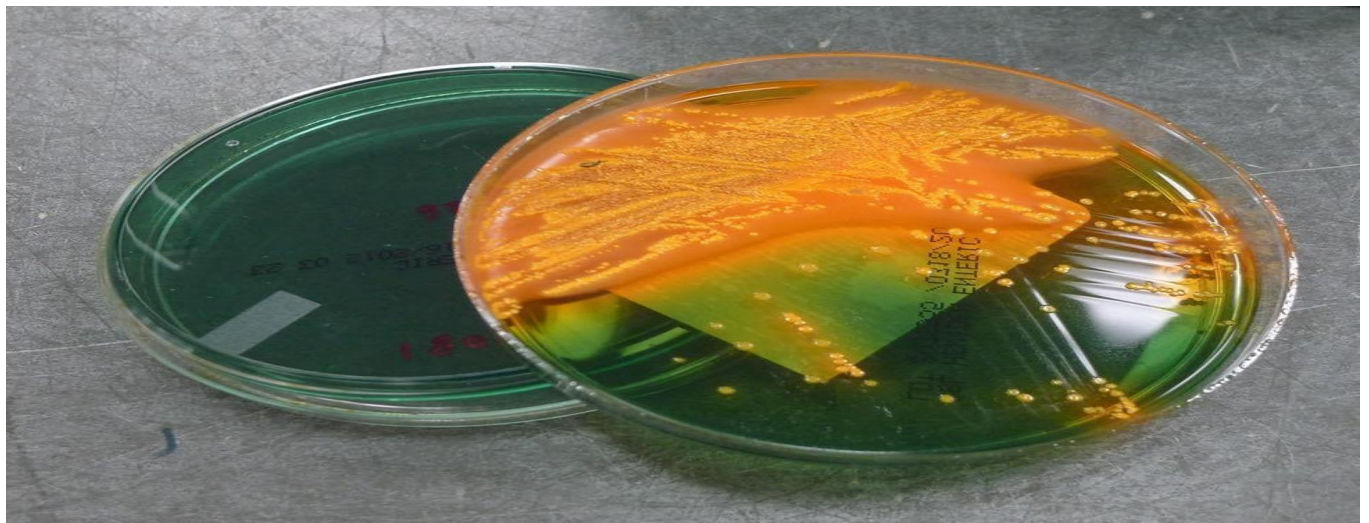


Figure-2- : *Escherichia coli* sur milieu Hecktoen (anonyme)
(https://selliliar.live/product_details/52790265.html)

V-3-3-Dans un bouillon nutritif :

Dans ce cas le trouble du tube n'est pas négligeable sans oublier un noircissement léger du milieu. (Nassik *et al.*, 2021)

V-4-Caractères antigéniques :

L'étude antigénique est l'étude des antigènes de *Escherichia coli* et leur classification. *Escherichia coli* a des antigènes liées à quatre types de structures (Bernard Joly *et al.*, 2002).

| Antigènes | Caractéristiques |
|---|---|
| <p>Antigène « O » ou antigène de paroi (somatique)</p> | <p>-C'est l'une des spécificités qui permettent de déterminer la souche en question (Bernard Joly <i>et al.</i>, 2002)</p> <p>-Chez <i>Escherichia coli</i>, ces antigènes sont très variables et on a déterminé 164 antigènes spécifiques présents sur la paroi (se trouvent associés aux lipopolysaccharides) (Joly <i>et al.</i>, 2002)</p> <p>-L'étude de cette caractéristique est très délicate et est réalisée dans des laboratoires spécialisés dans le « Statens Serum Institut ». (Joly <i>et al.</i>, 2002).</p> |
| <p>Antigène flagellaire « H »</p> | <p>-Représente les protéines du flagelle. (Joly <i>et al.</i>, 2002)</p> <p>-Leurs diversification nous a permis d'identifier environ 50 antigènes flagellaire « H ». (Joly <i>et al.</i>, 2002)</p> <p>-Englobe les caractéristiques des sérotypes de colibacilles « O » et même parfois l'antigène « K ». (Joly <i>et al.</i>, 2002)</p> |

| | |
|---|---|
| | <p>-Il est aussi employé dans la détermination des épidémies et des souches pathogènes. (Joly <i>et al.</i>,2002)</p> |
| <p>Antigène « K » (antigène d'enveloppe)</p> | <p>-C'est un antigène de nature polysaccharidique. (Joly <i>et al.</i>,2002)</p> <p>-Sa propriété c'est qu'il est présent sur la surface des cellules d'une même espèce de manière irrégulière . Autrement dit , il peut être présent d'une manière très abondante au point de former une capsule sur la surface cellulaire. Il s'agit généralement des antigènes « K » de type « A » cachant ainsi l'antigène « O » qui sera par la suite visible qu'après utilisation de la chaleur à 120°C qui détruira l'antigène « K ».(Joly <i>et al.</i>,2002)</p> <p>-La plupart des souches appartenant à la même espèce portent l'antigène K de type B. (Joly <i>et al.</i>,2002)</p> |

Tableau-4-: Caractères antigéniques de *Escherichia coli* (Joly *et al.*,2002)

VI-Pouvoir pathogène :

Escherichia coli possède un pouvoir pathogène sur l'homme et aussi sur l'animal.(Joly *et al.*,2002)

VI.1.Pouvoir pathogène chez l'homme :

Vu que la colibacille possède des pouvoirs d'adhésion, donc elle se lie aux cellules humaine et donc peut provoquer des maladies intestinales dont : la diarrhée du voyageur due aux ETEC , gastro entérites infantiles aiguë et chroniques due aux EPEC , syndrome dysentérique chez l'adulte et l'enfant due aux EIEC. Elle provoque aussi des infections extra intestinales comme les septicémies, les méningites néonatales, et les infections puerpérales. .(Joly *et al.*,2002)

VI.2.Pouvoir pathogène chez l'animal :

La pathogénicité du colibacille chez l'animal se manifeste de la même façon que chez l'homme et provoque des maladies très grave et des pertes économiques énormes. Parmi ces maladies, on peut citer la colibacillose, diarrhées dysentérieformes chez le veau, maladies œdémateuses du porc. (Joly *et al.*,2002)

VII-Facteurs de virulences :

La bactérie *Escherichia coli* se distingue par la présence des gènes offrant à cette dernière la capacité de s'adhérer aux épithéliums, d'envahir un organisme par sa pénétration en s'échappant aux barrières de l'organisme mais aussi de résister au système immunitaire. Toutes ces actions sont assurées par ce qu'on appelle « les facteurs de virulence ».(Bidet *et al.*,2012)

Ces facteurs peuvent causer plusieurs anomalies au sein d'un organisme. Certains d'entre eux peuvent aboutir à des processus métaboliques, biochimiques et moléculaires et peuvent être classés en 2 catégories : l'adhésine PapGII du pili de type P qui cause une pyélonéphrites aigue et la capsule K1 qui cause une méningite néonatale. (Bidet *et al.*,2012)

Chapitre II :
La colibacillose aviaire

I-Définition :

La colibacillose aviaire est une pathologie infectieuse dont l'agent pathogène est la bactérie *Escherichia coli* pathogène (APEC). Cette bactérie peut vivre sous forme planctonique ou sous forme de biofilm, dont la formation est utilisée comme outil de résistance pour cette bactérie. (Tan *et al.*,2021).

Cette maladie est l'une des causes majeures de la hausse économique en production avicoles. (Tan *et al.*,2021)

II-Problèmes causés par la colibacillose :

-Sur l'élevage :

La colibacillose aviaire est une affection qui présente un risque particulièrement redoutable en menaçant plusieurs productions avicoles ; en causant des pertes économiques de grande ampleur en provoquant un taux de morbidité et de mortalité très élevés. La manifestation de la maladie dépend de l'âge de l'animal (infection de la vésicule vitelline, coli septicémie, maladie respiratoire chronique). Sans oublier les retards de naissance, les complexes respiratoires chroniques et aussi les dépenses financières énormes lors des antibiothérapies. (Stordeur *et al.*,2001)

III-Résistance aux antibiotiques :

III.1. Généralités sur les antibiotiques

Les antibiotiques est l'une des meilleures inventions au cours du 20^{ème} siècle. Ils sont utilisés dans le domaine de la thérapie ainsi que le domaine pharmaceutique en étant considéré comme moyen de lutte contre plusieurs bactérie et sauvèrent plusieurs vie. (Koirala *et al.*,2021)

Viendrait le moment le plus redoutable, ou l'efficacité de cette thérapie va baisser, par le fait que les bactéries ont commencé à développer des moyens de lutte contre ces antibiotiques et donc le développement de bactéries multirésistantes. (Koirala *et al.*,2021)

III.2. Résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques est apparue quelque temps après la découverte de l'antibiothérapie. Cette résistance peut être soit naturelle ou acquise (Yala *et al.*,2001)

III.2.1 Résistance naturelle :

C'est une caractéristique spécifique de la souche qu'elle a naturellement dans ses gènes (autrement dit n'est pas survenue du milieu extérieur ou par contact avec d'autres bactéries). (Yala *et al.*,2001)

III.2.2 Résistance acquise :

Contrairement à la résistance naturelle, cette résistance s'effectue grâce à l'incorporation d'un ou de plusieurs gènes appartenant à la même espèce ou à une espèce différente. Il y a différentes manières d'acquisition de ces gènes dont la transformation, la conjugaison et la transduction ou par le biais des transposons. (Yala *et al.*,2001)

IV. Microorganismes indicateurs de résistance aux antibiotiques

IV.1 Méthodes phénotypiques de détection de la résistance aux antibiotiques

Ces techniques peuvent être réparties en deux catégories ; celle qui sont indispensables et celles qui sont complémentaires utilisées dans des cas spécifiques. Parmi ces techniques indispensables on peut citer : les antibiogrammes et la mesure de la CMI.(Bonnet.,2018)

On parle aussi de techniques complémentaires qui consiste en les méthodes chromogéniques, les méthodes immunologiques, les méthodes basées sur la spectrométrie de masse (SM), les méthodes moléculaires et génomiques par exemple : amplification, séquençages, (Bonnet.,2018)

IV.2 Méthodes génotypiques de détection de résistance aux antibiotiques :

Elles sont très diversifiées et englobe le séquençage de Sanger, le séquençage à haut débit (NGS) (Bonnet.,2018)

V. Mécanismes de résistance des *Escherichia coli* aux différentes familles d'antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques est devenue une préoccupation très importante vu l'augmentation incontrôlable des souches multirésistantes en Algérie. Ces dix dernières années ont révélées une augmentation très inquiétante de cette fameuse résistance. (Arlet *et al.*,2014)

V .1 Résistance aux bêtalactamines :

Elle se distingue des autres résistances par la formation de bêtalactamase. Cette enzyme très efficace qui contribue à la destruction du cycle bêtalactame (Sotto *et al.* ,.2002). Cette résistance se manifeste essentiellement par la production de BLSE de type CTX-M et de carbapénémases de type KPC, OXA et métallo-enzymes.(Arlet *et al.*,2014)

V .2 Résistance aux quinolones :

Les quinolones sont des éléments antibactériens. Ils sont toujours utilisés contre les *Escherichia coli* et donnent des résultats très satisfaisants. (Webber *et al.*,2001)

Ces dernières années, les souches de *Escherichia coli* ont développé des résistances à ces quinolones par différents mécanismes essentiellement par mutation des cibles. (Webber *et al.*,2001)

On peut également citer d'autres manières de résistance qui sont soit par l'expulsion de l'antibiotique hors de la cellule ou soit par modification de la surface cellulaire ; il s'agit de baisser la perméabilité par la cellule et rendre donc la pénétration impossible des quinolones à l'intérieur de cette cellule. (Webber *et al.*,2001)

V .3 Résistance à la fosfomycine :

La fosfomycine est un antibiotique qui agit sur les souches bactériennes par la diminution de leur virulence. Mais les *Escherichia coli*, ont trouvé un moyen de résister à cet antibiotique qui est la compensation de cette perte de virulence par l'acquisition par mutations des gènes de résistances, ce qui lui permet d'être virulente et résistante à la fois. (Fantin *et al.*,2017)

V.4 Résistance à la tétracycline :

La tétracycline est un antibiotique qui n'est généralement pas utilisé pour traiter les infections causées par *Escherichia coli* chez l'homme mais plutôt pour traiter d'autres infections causées par d'autres germes. Ceci a permis d'avoir un effet dit « bystender », autrement dit le développement de la résistance de *Escherichia coli* à la tétracycline indirectement lors du traitement d'autres infections humaines. (Karami *et al.*,2006)

VI. Diagnostique :

Le diagnostic de la colibacillose aviaire repose sur le contrôle de deux aspects : l'observation des symptômes de la maladie en question (autrement dit le tableau clinique) qui se manifeste par la présence de lésions qui sont : une aérosacculite, périhépatite et une péricardite. Et le diagnostique différentiel approfondie car il y a des maladies causées par plusieurs agents pathogène, on peut citer par exemple la péricardite qui peut être causé par la présence de colibacillose aviaire ou peut être associé à *Chlamydia Spp.* En d'autres termes le diagnostique différentiel, permet d'éliminer d'autres causes possibles des lésions observées. (Stordeur *et al.*,2001)

Chapitre III :

Etude expérimentale

I-Problématique :

Le terme de colibacillose a été proposé par Gilbert à la fin du siècle dernier. Ce terme s'applique à un ensemble de manifestations morbides provoquées soit par augmentation de virulence du colibacille, soit par sa propagation à divers organes qui ne constituent pas son habitat normal.

C'est une maladie bactérienne, elle est très fréquente chez les oiseaux. Elle est très connue par le taux de mortalité élevé et elle est considérée fréquente et potentiellement grave chez la volaille.

Pour lutter contre cette pathologie, on a opté à divers thérapies mais hélas elle étaient un échec. Et pour cela l'objectif de notre étude est :

II-Objectifs d'étude :

- * Rechercher et caractériser les *Escherichia coli* associés à des épisodes cliniques chez les volailles.
- * Etudier leurs profils de résistance aux antibiotiques.
- * Faire une étude épidémiologique pour cela.

III.Matériel et méthode

III.1 Lieu et période de stage:

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie à l'université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou en une durée de 3 mois.



Figure-3- : Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques

III.2 Fiche d'enquête :

Nous avons réalisé une fiche d'enquête en relation avec la problématique posée ; dans laquelle les informations concernant les prélèvements étaient mentionnées. (Voir annexe N°1)

III .3 Collecte des prélèvements (zone d'étude) :

Les prélèvements utilisés dans ces recherches ont été effectués au niveau de la Wilaya de Tizi Ouzou principalement dans les régions de Freha.



Figure-4- : Localisation de la région de Freha (anonyme)

III .4 Méthodes de collecte des prélèvements :

La collecte de nos prélèvements s'est faite au niveau de la région de Freha.. Ceci était réalisé en contactant des vétérinaires de la région et en leurs expliquant la méthode du prélèvement d'organes suspects d'avoir une colibacillose pour les étudier directement au laboratoire.

Une autre méthode est possible, c'est celle de la réalisation des écouvillonnages par des vétérinaires de la région puis leur étude au laboratoire.



**Figure -5- : Ecouvillons des organes (photo prise au laboratoire)
(Originale 2024)**

IV. Au laboratoire

IV.1 Matériel utilisé :

Nous avons utilisé des réactifs, milieux de culture, ... pour l'isolement et l'identification des *Escherichia coli* qui sont présents dans l'annexe N°3 et N°4

IV.2 Techniques utilisées

IV.2.1 Pré enrichissement : Devant le bec bensen, en réalisant un écouvillonnage des

organes présentant des lésions, on coupe les écouvillons et on les met dans des tubes contenant 10 ml d'eau peptonnée tamponnée (sans oublier l'ajout du tube témoin contenant de l'eau peptonnée seule pour vérifier la stérilité du milieu) puis on incube à 37°C pendant 24h (Cette étape se fait sur terrain).

Dans le cas de réception d'organes, la technique diffère. Dans ce cas on coupe les organes en petits morceaux et on les met dans des tubes contenant 10ml d'eau peptonnée tamponnée , puis on les incube à 37°C pendant 24h (cette étape est faite au laboratoire)

IV.2.2 Enrichissement : Devant le bec bensen, et à l'aide d'une micropipette, on prend 1 ml de la solution issue du pré enrichissement après incubation qu'on va mettre dans des tubes contenant 10 ml de BHIB, puis on incube à 37°C pendant 24h.



Figure-6-: Matériel utilisé pour l'enrichissement (Photos prises au laboratoire)
(Originale 2024)

IV.2.3 Isolement

-Dans la zone stérile, et avec une anse de platine, on prend une goutte de la solution issue de l'enrichissement et on la met dans une boîte de Pétri contenant de la gélose Hecktoen puis on l'ensemence en stries serrées (3 quadrants), puis on incube à 37°C pendant 24h.



Figure-7-: Matériel utilisé pour l'isolement (Photo prise au laboratoire)
(Originale 2024)

IV.2.4 Purification :

Dans la zone stérile, et avec une anse de platine, on prélève une colonie bien isolée de la culture précédente (la culture issue de l'isolement) qu'on va réensemencer sur milieu Hecktoen.

-Puis on incube la boîte à 37°C pendant 24h.



Figure-8-: Matériel utilisé pour l'isolement (Photo prise au laboratoire)
(Originale 2024)

✚ Vient l'identification qui comprend ces étapes :

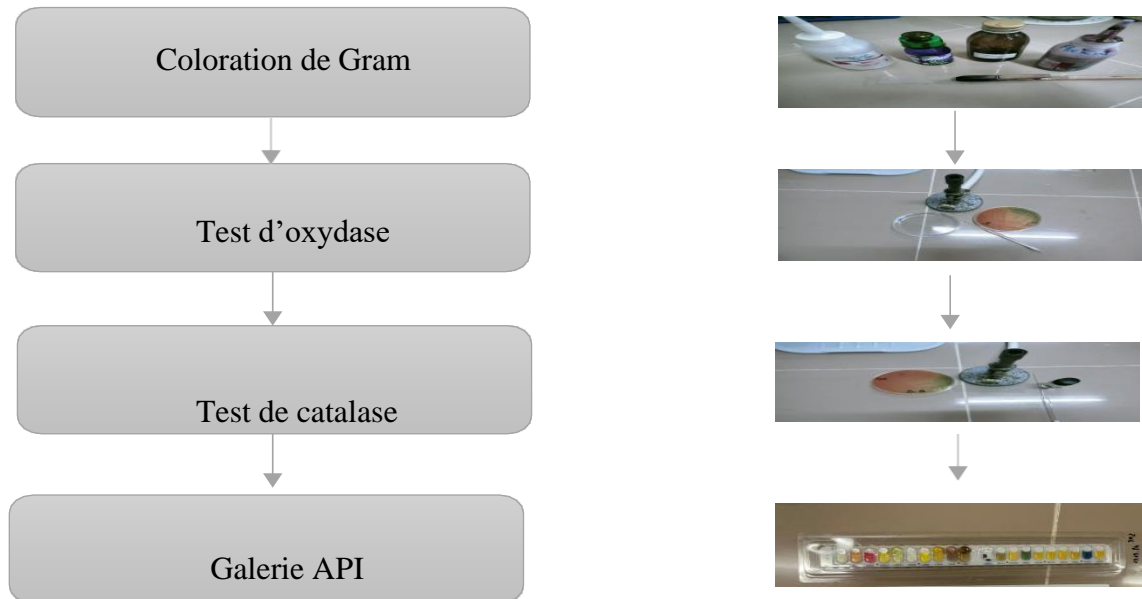


Schéma -1- : Schéma récapitulatif sur les techniques de l'identification
(Originale 2024)

➤ Pour les détails des techniques d'identification, voir annexe N°4

IV.2.5 Etude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

L'étude de la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques s'effectue grâce à la réalisation d'un antibiogramme pour une souche jeune (de 16h à 18h) ensemencée sur gélose nutritive par diffusion (normes CLSI) dont les étapes sont les suivantes :

IV.2.5 .1 Réalisation d'une suspension et mesure de la DO

En prenant une colonie et en la mettant dans de l'eau physiologique et on homogénéise le tout à l'aide d'un vortex, puis on mesure la DO de la suspension.

Remarque :

La DO de la suspension doit être comprise entre 0.08 et 0.1.

DO <0.08 : On ajoute des colonies à la suspension

DO > 0.1 : On ajoute de l'eau physiologique à la suspension. (c'est la réalisation d'une dilution)



Figure -a- : Anse de platine, cuves, boîtes d'Ecktoen et de MH.



Figure-b- : Vortex



Figure -c- : Spectrophotomètre

Figure-9-: Matériel utilisé pour la préparation de la suspension bactérienne (Photos prises au laboratoire) (originale 2024)

IV.2.5 .2 Réalisation de l'antibiogramme

-En ouvrant aseptiquement le tube contenant la suspension, et avec un écouvillon qu'on va imbiber avec la suspension. Puis, on va ensemencer toute la boîte contenant le milieu MH et enfin on vient déposer les disques d'antibiotiques.



Figure-10- : Matériel utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme (photo prise au laboratoire) (originale 2024)

IV.2.5.3 Lecture des résultats :

-Par la mesure des zones d'inhibitions en (mm) (zones où les colonies ne se sont pas poussées) en utilisant une règle.

IV.2.6 Etude de la sensibilité aux huiles essentielles (aromatogramme) :

-Dans cette étape, on a testé l'activité antimicrobienne de deux huiles essentielles ; l'huile de pin et l'huile de sauge connues par leur activité anti microbienne contre les souches de *Escherichia coli*. Pour cela, on a choisie deux souches représentatives qu'on a trouvé résistantes à plusieurs antibiotiques lors de la réalisation de l'antibiogramme. Puis la réalisation des dilutions allant de $\frac{1}{2}$ au $\frac{1}{128}$. (Pour plus de détails voir l'annexe N°4.



Figure-11-: Matériel utilisé pour la réalisation d'un aromatogramme (Photo prise au laboratoire) (originale 2024)

✚ Résultat de l'aromatogramme :

Aucune zone d'inhibition n'est apparue dans les deux boîtes. Donc les deux souches testées sont résistantes aux huiles testées (huile de Pin et huile de sauge).

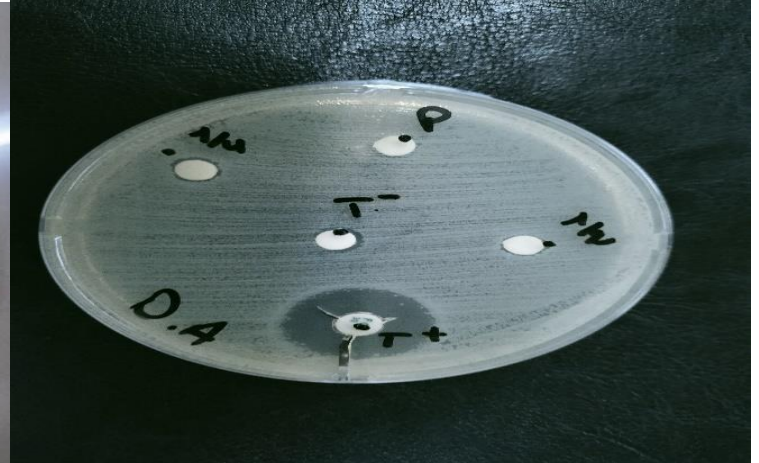
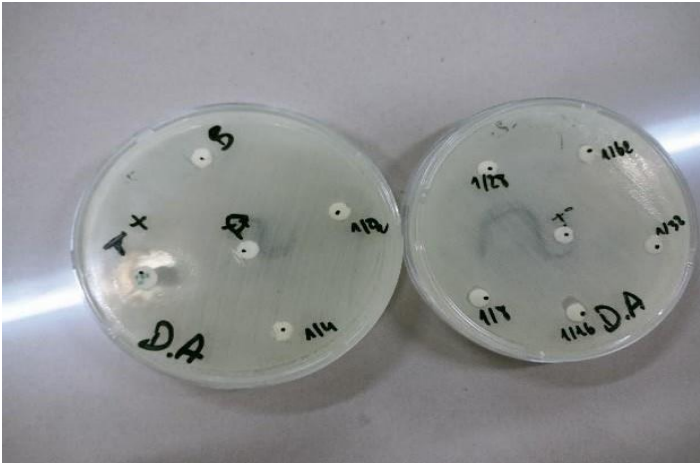


Figure-12-:Aromatogramme des souches d'*Escherichia coli* en utilisant l'huile de Sauge Pin (Photo prise au laboratoire) (originale 2024)

Figure-13-:Aromatogramme des souches d'*Escherichia coli* en utilisant l'huile de Pin (Photo prise au laboratoire) (originale 2024)

V Résultats :

-Dans notre recherche on a deux types de résultats : résultats de laboratoire et résultats de l'enquête.

V.1 Résultats selon la présence de *Escherichia coli* :

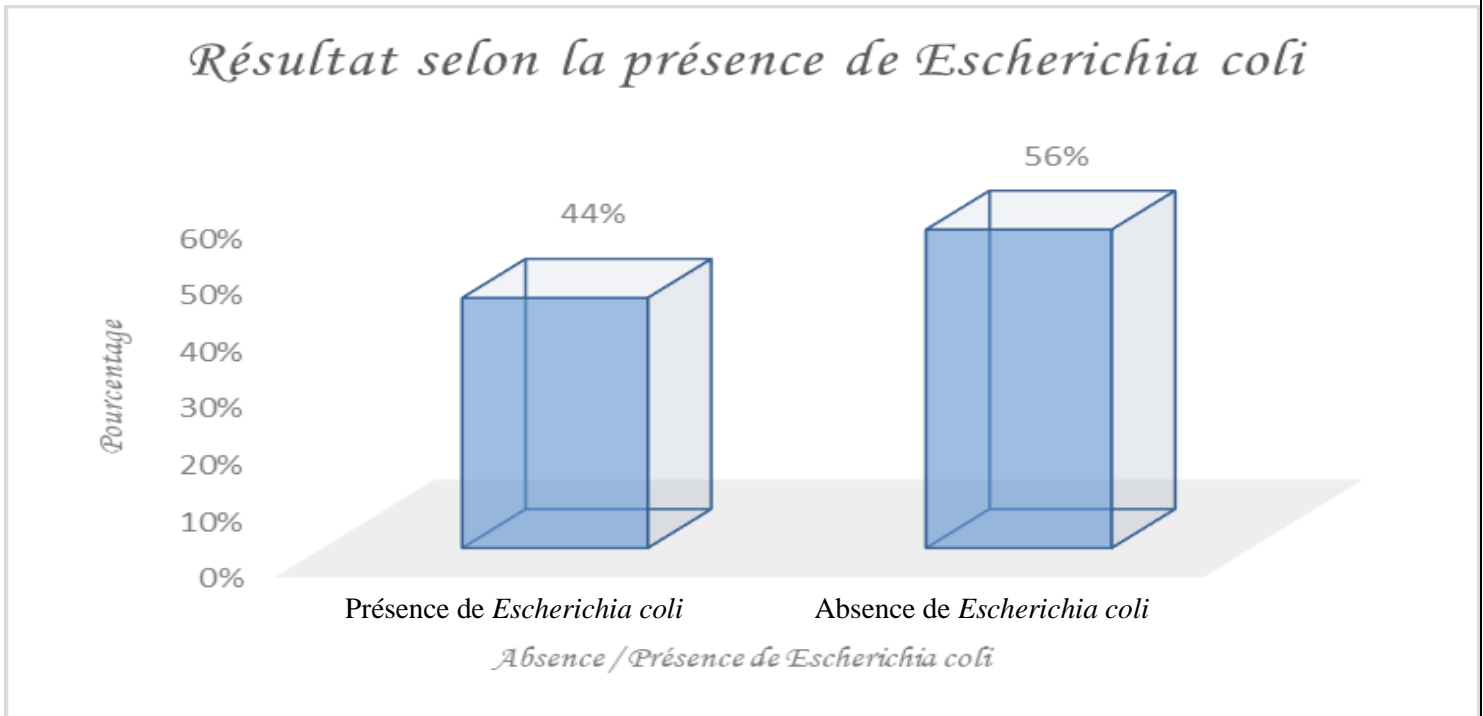


Figure-14- : Résultats selon la présence de *Escherichia coli*.

- Sur un total de 32 échantillons, 44% de nos prélèvements se sont révélés positifs à la présence de *Escherichia coli*.

V.2 Résultats selon la présence de multirésistance :

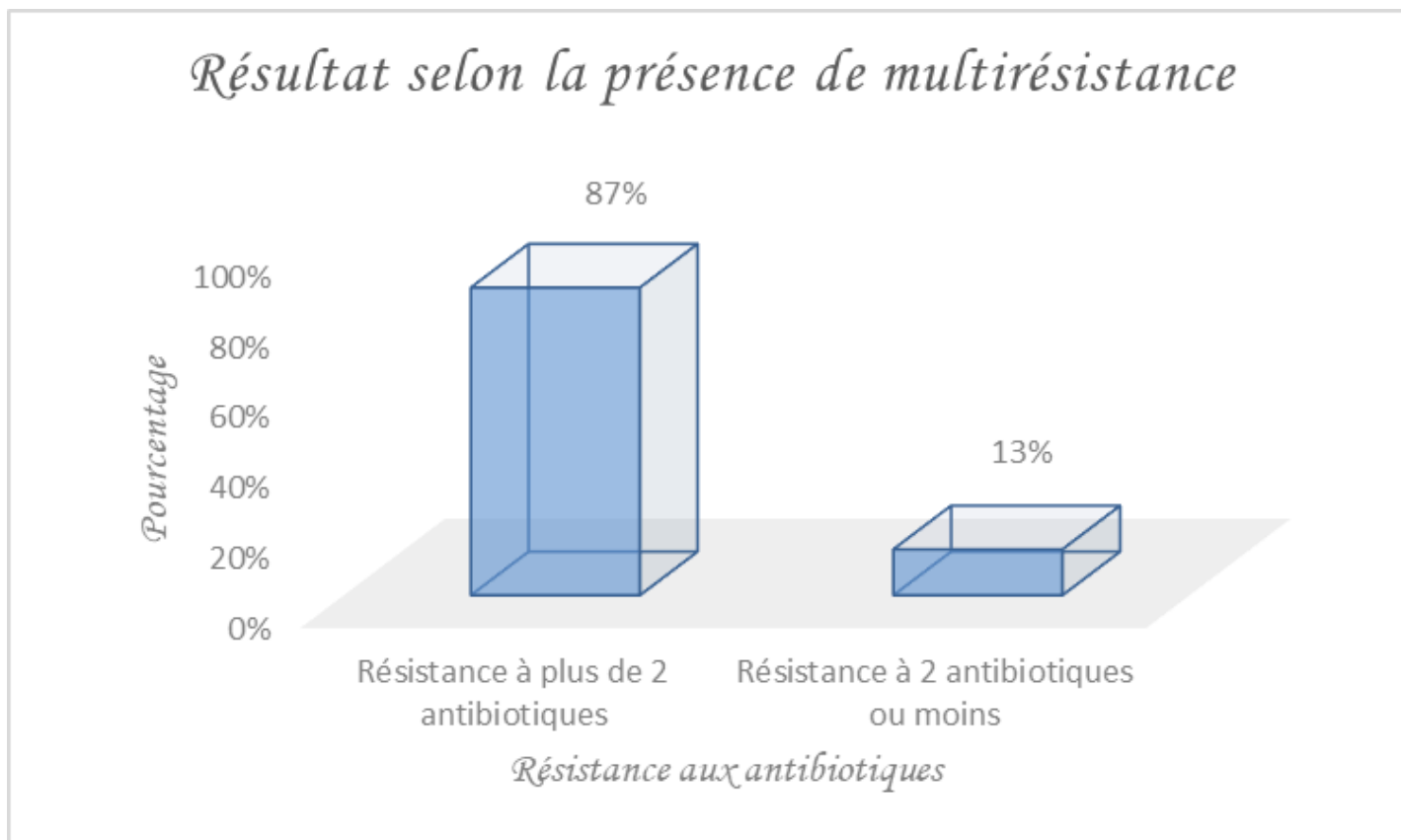


Figure-15- : résistance à 2 ou plusieurs antibiotiques.

- ✚ 87% de nos souches sont résistantes à plus de deux antibiotiques et 13 % sont résistantes à moins de deux antibiotiques.

V.3 Résultats de l'enquête :

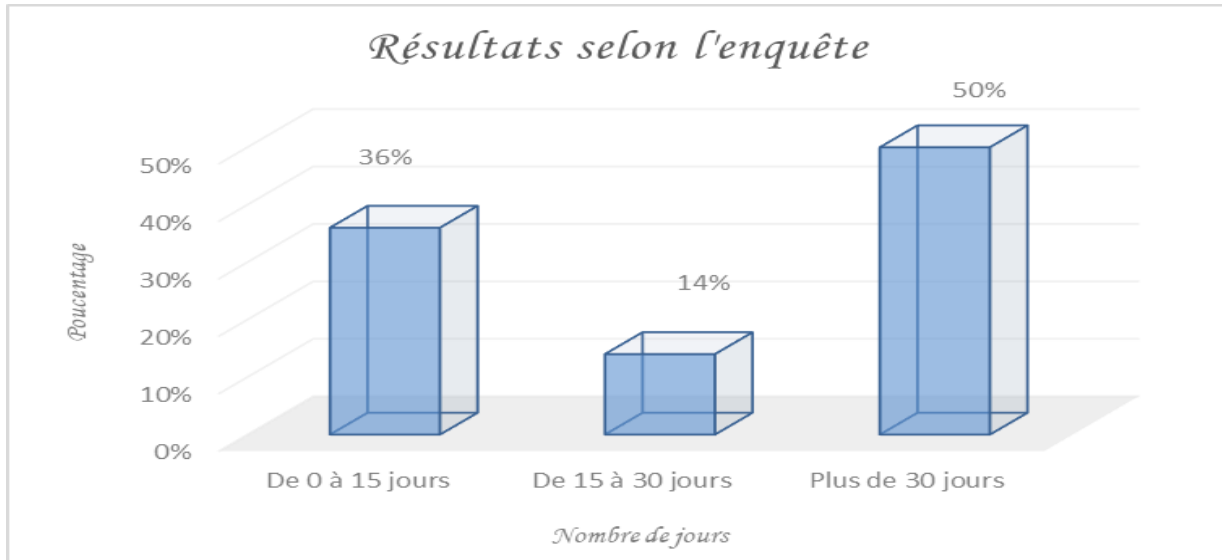


Figure-16- : Résultats de l'enquête

- ✚ La colibacillose est présente avec un taux élevé chez les poulets de plus 30 jours, cette maladie est moins présente chez les poulets de 0 à 15 jrs, elle est présente à un taux très faible chezles poulets de 15 à 30 jrs.

V.4 Résultats selon la mortalité :

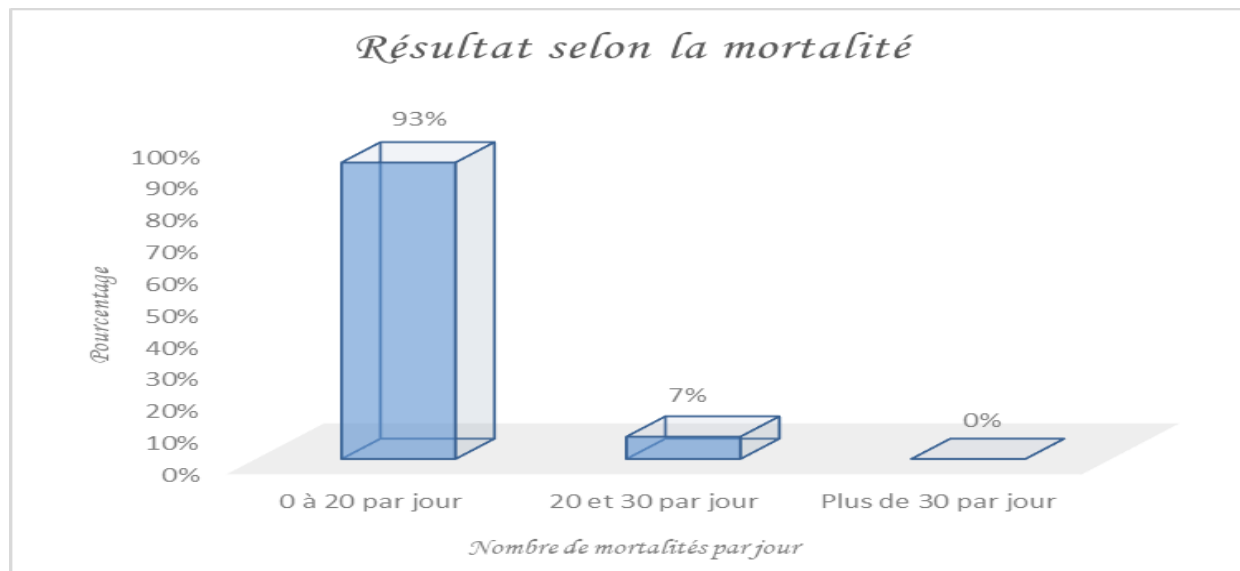


Figure-17- : Résultats selon la mortalité.

✚ La mortalité est de 0 à 20 par jours lorsque la colibacillose est de 93%.

V.5 Résultats selon l'espèce :

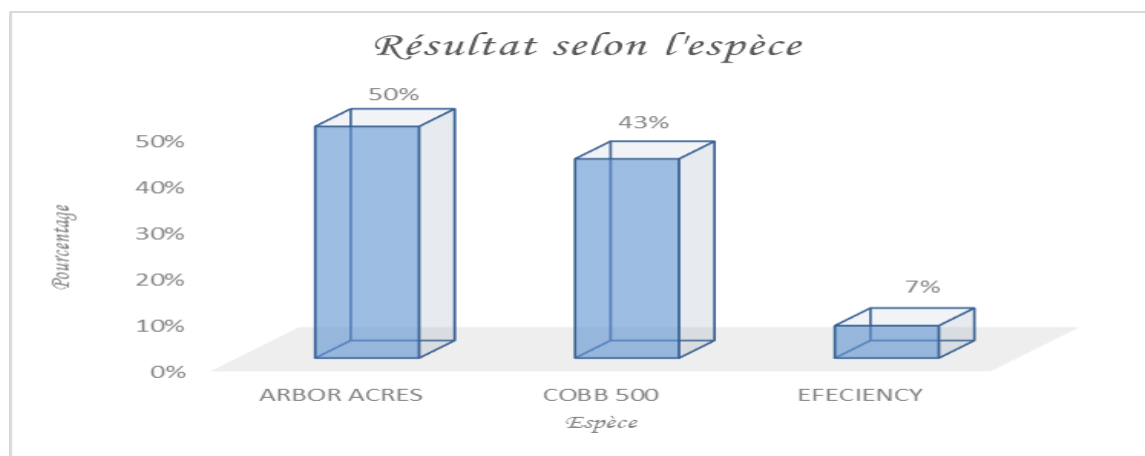


Figure-18- : Résultats selon l'espèce

✚ Le taux de colibacillose est élevé chez la souche ARBOR ACRES, il est moyen chez COBB 500 et faible chez EFECIENCY.

V.6 Résultats selon l'effectif :

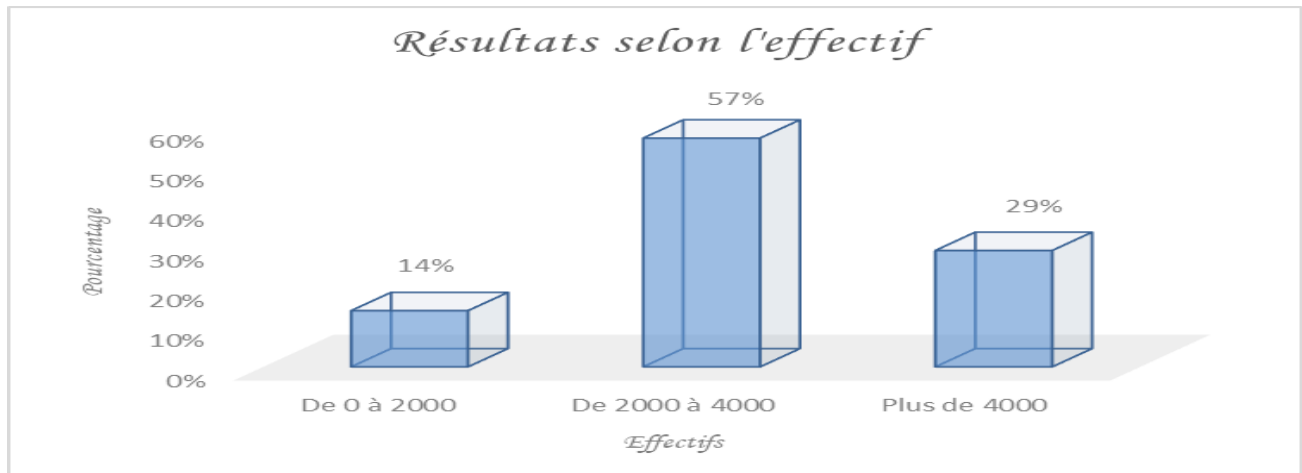


Figure-19- : Résultats selon l'effectif.

- ✚ Le pourcentage de colibacillose est élevé chez les effectifs qui varient entre 2000 et 4000 sujets, moyen chez plus de 4000 sujets, et faible chez un nombre d'effectif qui varie entre 0 et 2000 sujets.

V.7 Résultats selon le type de bâtiments :

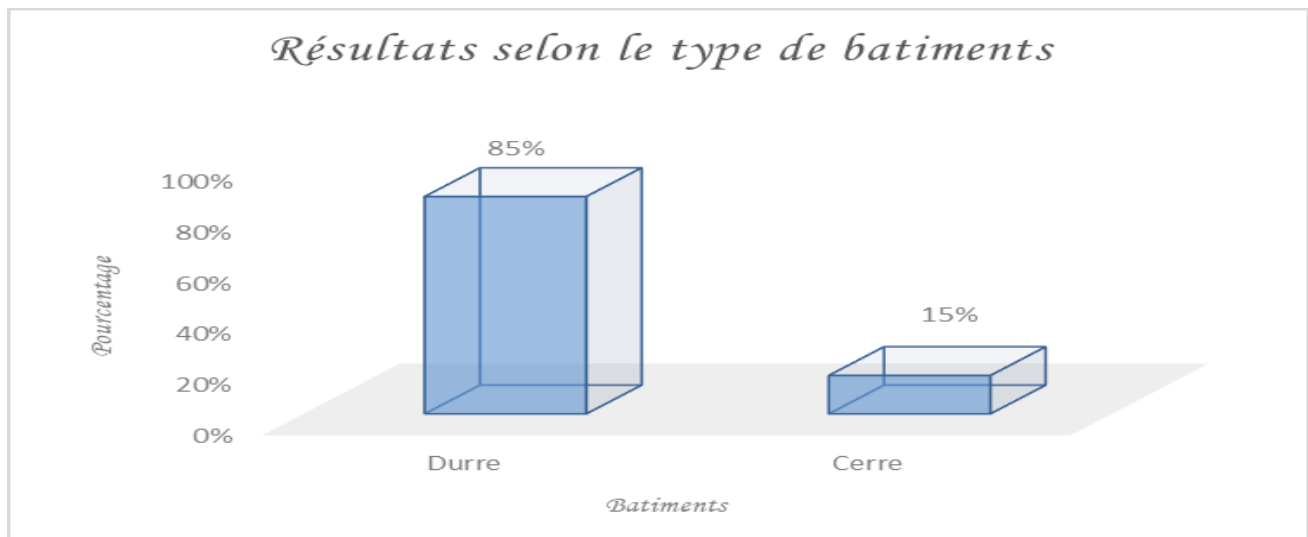


Figure-20- : Résultats selon le type de bâtiments

- ✚ La colibacillose est beaucoup plus présente dans les bâtiments en Durre (85%) que dans les bâtiments en Cerre (15%)

V.8 Résultats selon le type du sol :

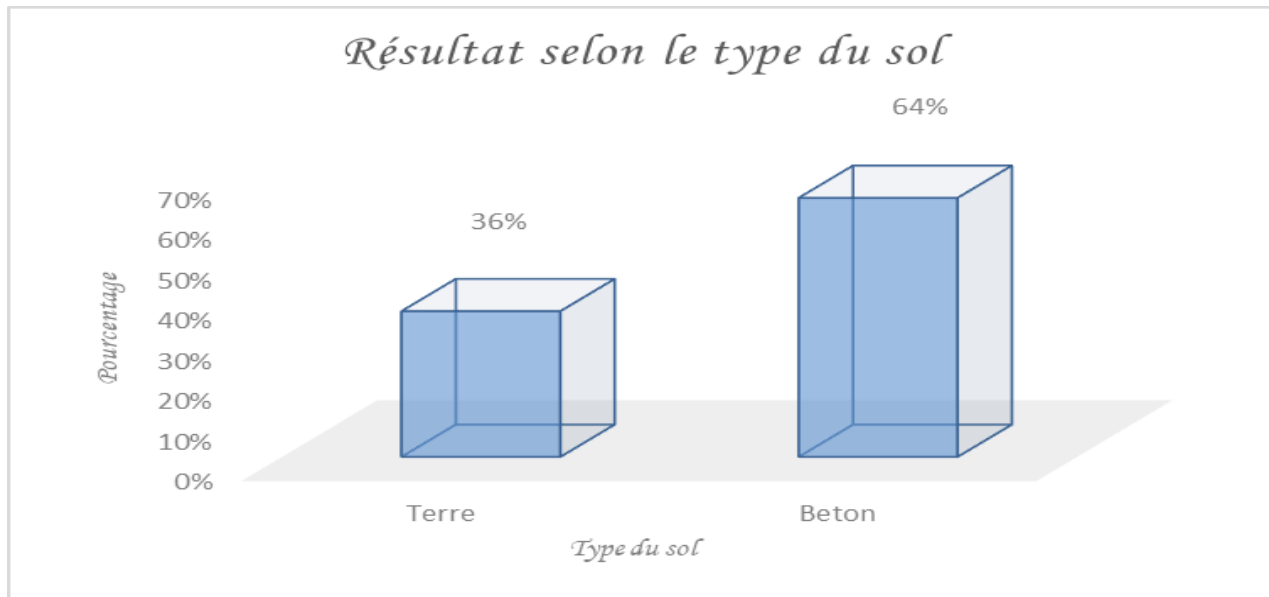


Figure-21- : Résultat selon le type de sol

- ✚ La colibacillose est beaucoup plus présente dans le sol en béton (64%) que dans le sol en terre (36%).

V.9 Résultats selon la réalisation de la désinfection :

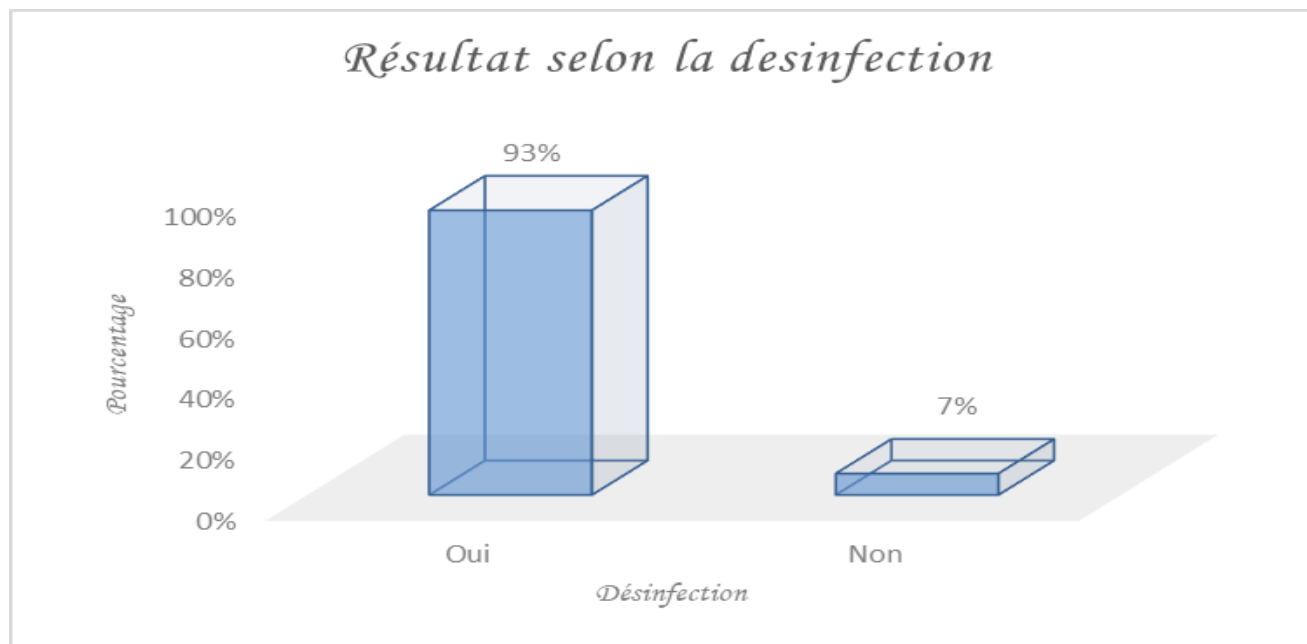


Figure-22- : Résultats selon la réalisation de la désinfection

✚ Le pourcentage de colibacillose est très élevé dans les bâtiments non désinfectés ; il est de 93 % .

V.10 Résultats selon la réalisation du vide sanitaire :

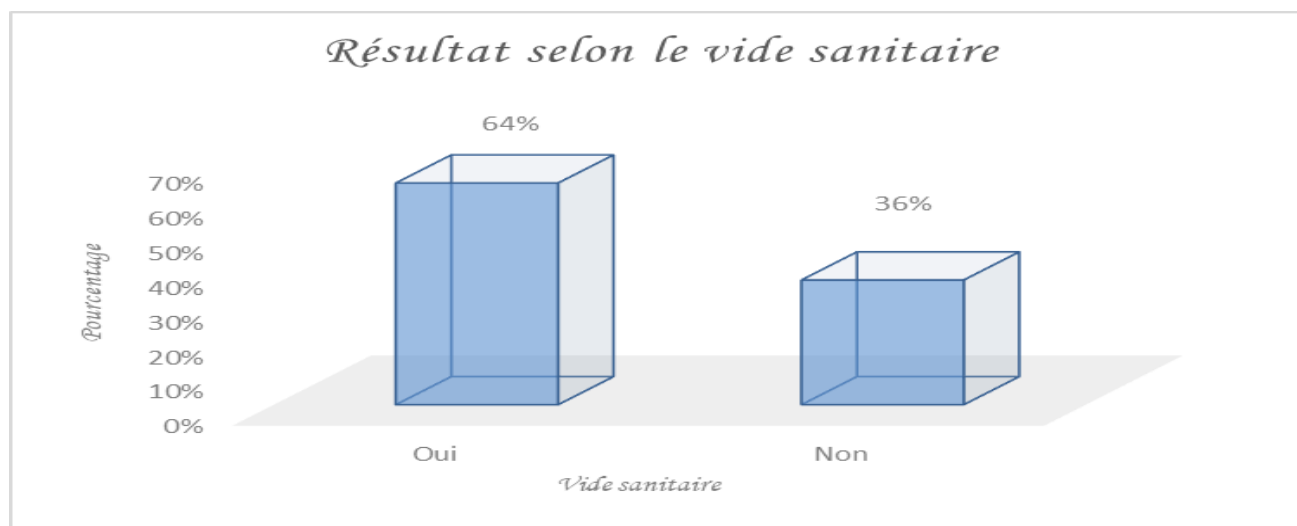


Figure -23- : Résultats selon la réalisation du vide sanitaire

✚ Lorsque le vide sanitaire est respecté, le taux de Colibacillose est plus élevé (64%).

V.11 Résultat selon le type de production :

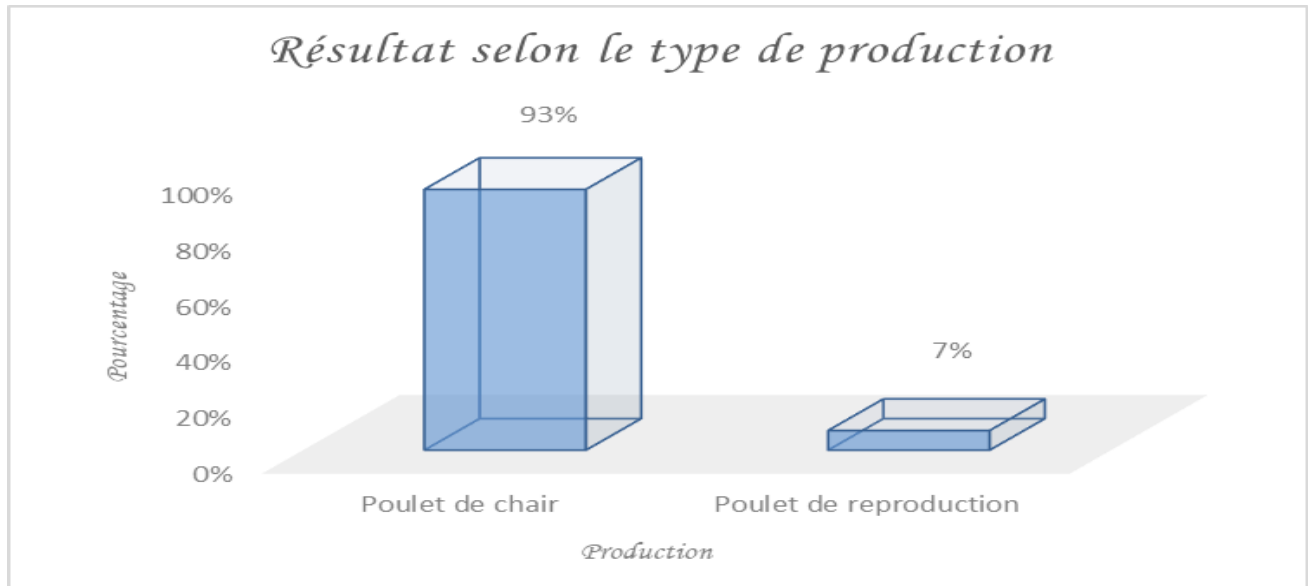


Figure-24- : Résultat selon le type de production

✚ La Colibacillose est présente chez le poulet de chair avec un taux très élevé (93%) contrairement chez le poulet de reproduction (3%)

V.12 Résultats selon la résistance aux antibiotiques :

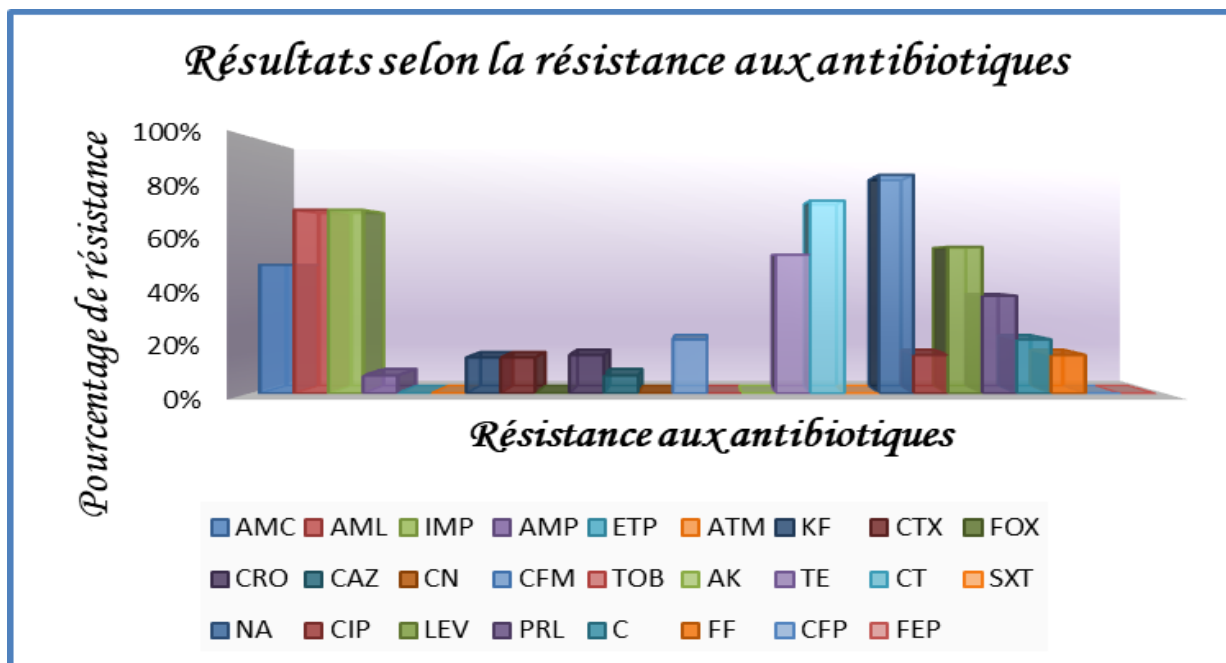


Figure -25- : Résultats selon la résistance aux antibiotiques

- ✚ La sensibilité à l'acide nalidixique, l'amoxicilline et l'imipeneme est très élevée et située entre 71 et 85%.
- ✚ La résistance à l'amoxicilline, tétracycline, lévofloxacine, pipéracilline est entre 38 et 50% .
- ✚ La résistance à l'ampicilline , céfotaxime, ceftriaxone, céftazidime, céfixime ciprofloxacine chloramphénicol et à la fosfomycine est très basse et varie entre 7 et 21%.

V.13 Résistance selon la famille d'antibiotiques :

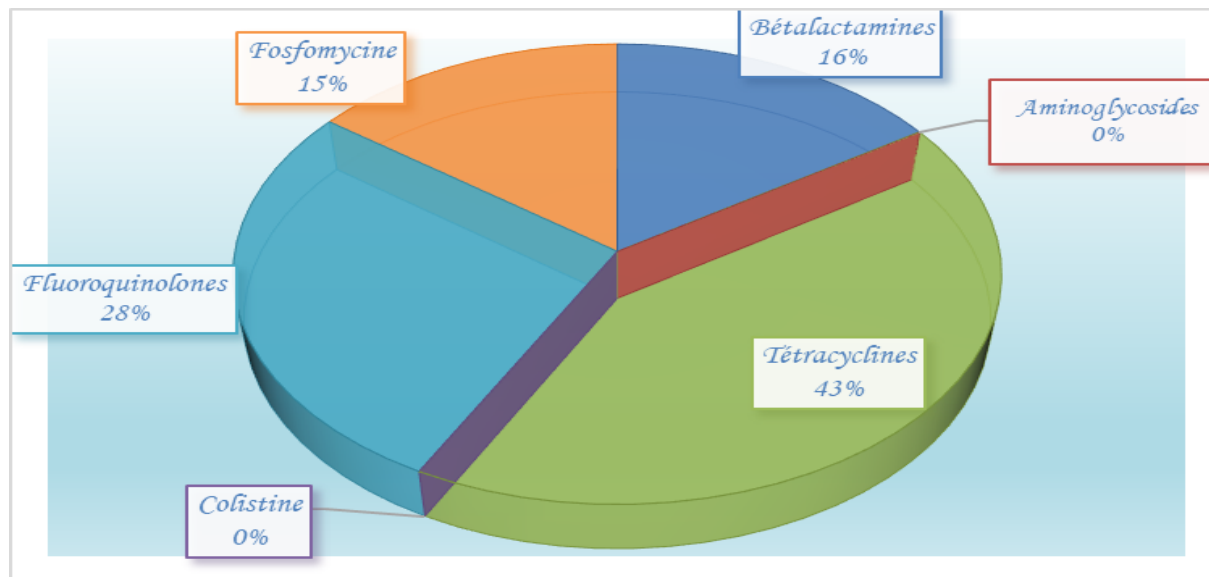


Figure -26- : Résultats selon la famille d'antibiotiques

- ✚ La résistance aux Bêtalactamines, à la Fosfomycine et aux Fluoroquinolones est de 15 à 28%.
- ✚ Aucune résistance n'a été enregistré pour les Aminoglycosides et la Colistine.

V.14 Résultats selon l'âge et la résistance aux antibiotiques :

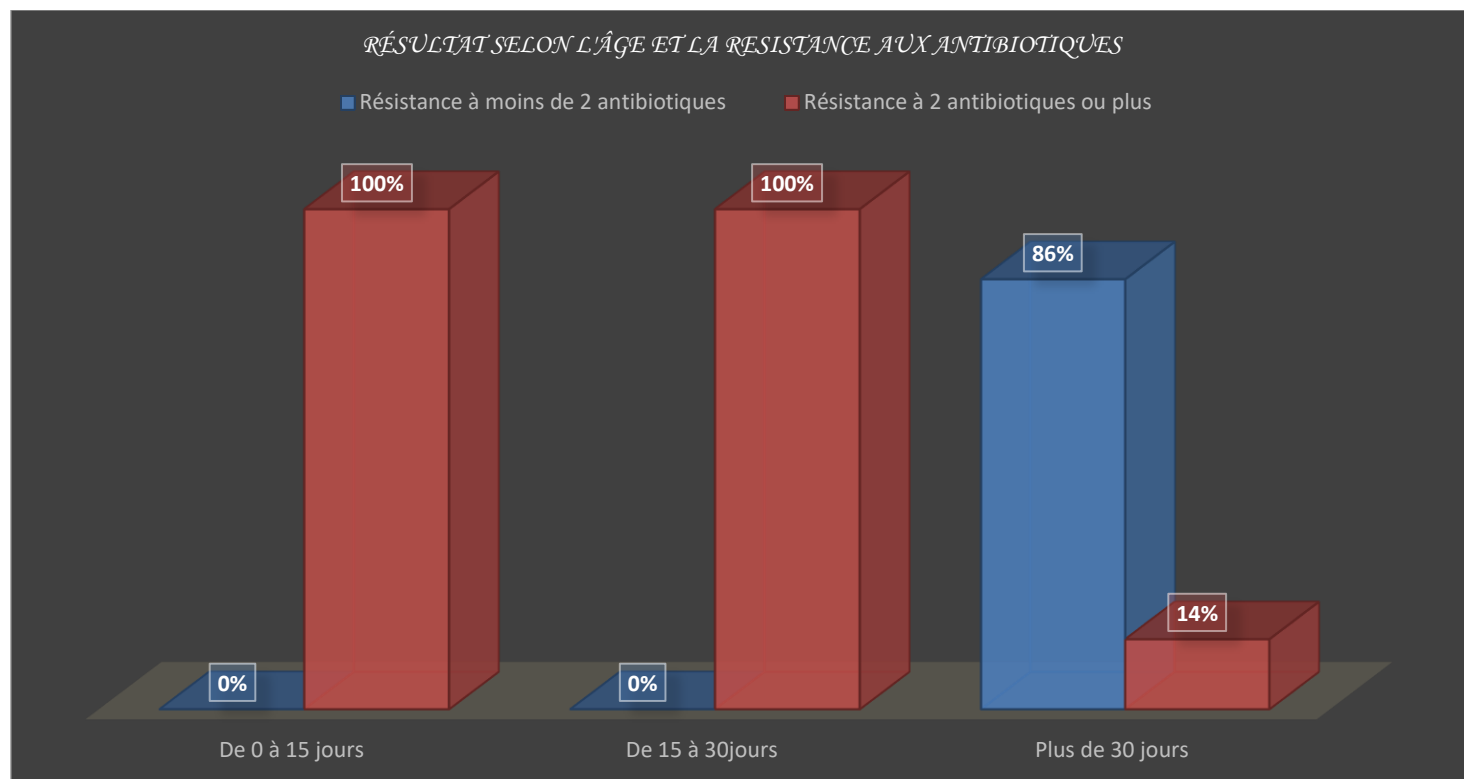


Figure 27: Résultats selon l'âge et la résistance aux antibiotiques

- ✚ Les poulets âgés de 0 à 15 jrs et ceux âgés de 15 à 30 jrs, ont enregistré un taux de multirésistance de 100%. Contrairement aux poulets âgés de plus de 30 jrs chez lesquels la fréquence est très faible ; elle est de 14%.

V.15.Profil de sensibilité des souches aux antibiotiques:

| Souches de <i>Escherichia coli</i> | Antibiotiques | Nombre d'antibiotiques | Total des souches résistantes aux antibiotiques |
|---|---|------------------------|---|
| | AMC,AML | 2 | 9 |
| | AMX,AML,IMP | 3 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP | 4 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP | 5 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM | 6 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF | 7 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX | 8 | 2 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX | 9 | 2 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO | 10 | 2 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ | 11 | 2 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN | 12 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM | 13 | 3 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB | 14 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK | 15 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE | 16 | 7 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT | 17 | 3 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT | 18 | 1 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA | 19 | 11 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA,CIP | 20 | 2 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA,CIP,LEV | 21 | 8 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA,CIP,LEV,PRL | 22 | 5 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA,CIP,LEV,PRL,C | 23 | 3 |
| | AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA,CIP,LEV,PRL,C,FF | 24 | 2 |
| AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA,CIP,LEV,PRL,C,FF,CFP | 25 | 1 | |
| AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM, KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA,CIP,LEV,PRL,C,FF,CFP,FEP | 26 | 1 | |

Tableau -5-: Profil de sensibilité des souches aux antibiotiques

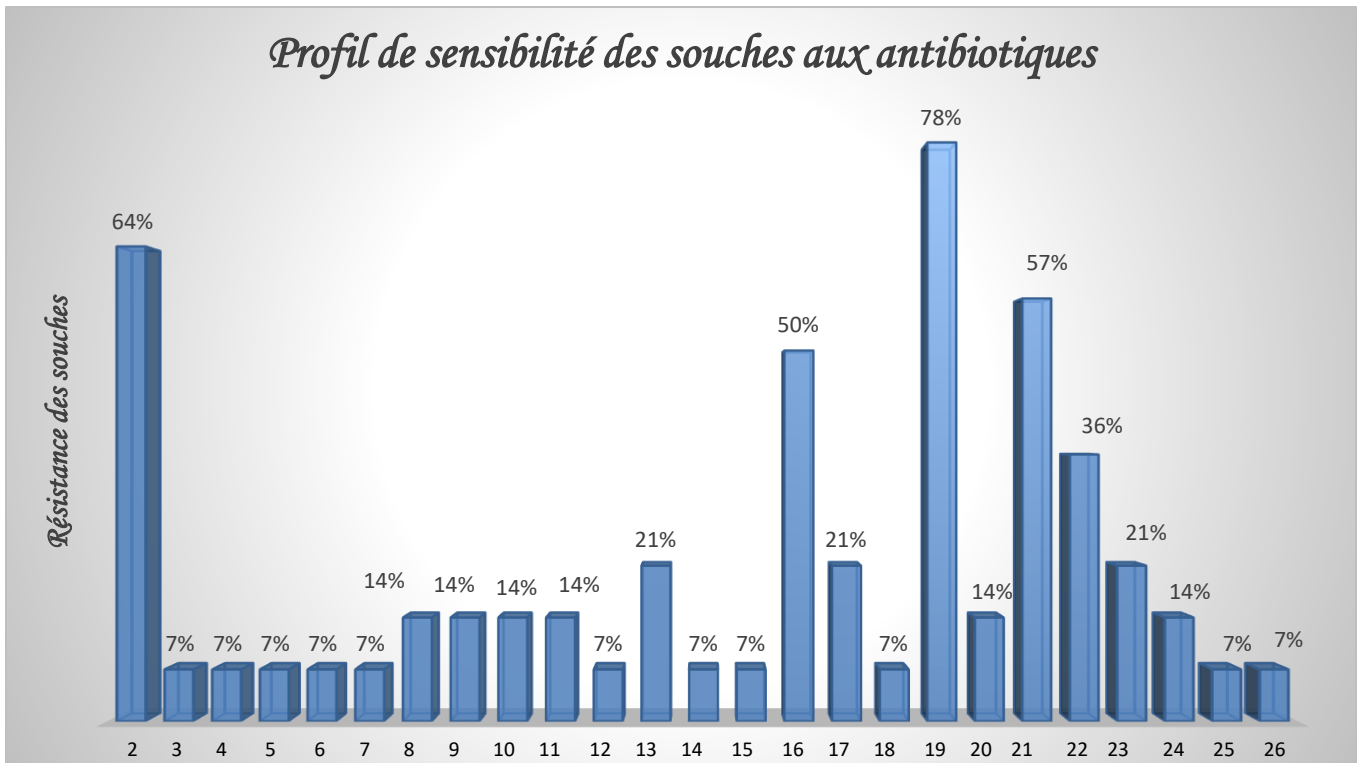


Figure 28 : Profil de sensibilité aux antibiotiques

- Le pourcentage de souches résistantes aux antibiotiques (AMC,AML), aux antibiotiques (AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM,KF,CTX,FOX,CRO,CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA) et aux (AMX,AML,IMP,AMP,ETP,ATM , KF, CTX,FOX,CRO, CAZ,CN,CFM,TOB,AK,TE,CT,SXT,NA,CIP,LEV) est très élevé et varie entre 57et78%.

VI Discussion :

Dans notre étude, 44 % de nos échantillons étaient positifs pour la présence d'*Escherichia coli*, en particulier chez les poulets âgés de plus de trente jours.

On constate chez le poulet âgé de zéro à vingt jours que la mortalité est de 93%, cette tranche d'âge est très touchée en la comparant à d'autres tranches d'âge, à cause du système immunitaire, qui n'est pas complètement mûr chez les jeunes poussins. Cette immunité est assurée par divers organes et a un rôle important du système de défense des oiseaux. (Alloui *et al.*,2012)

La souche ARBOR ACRES est la souche la plus touchée par la colibacillose avec un pourcentage de 50 % car c'est la plus présente dans notre échantillon, sachant que cette dernière est la souche la plus représentée en Algérie vue ces caractéristiques de rentabilité.

Les effectifs les plus touchés par la colibacillose sont ceux de plus de 2000 (à savoir de 2000 à 4000 et de plus de 4000), cela témoigne de la grande difficulté de la gestion des grands élevages (température, humidité, espace).

Les bâtiments les plus touchés sont ceux bâtis en dur et qui ont réalisé un vide sanitaire et une désinfection, cela nous laisse supposer un non-respect des règles de la désinfection et du vide sanitaire, ainsi qu'une mauvaise conception du bâtiment (souvent ce sont des bâtiments qui ne sont pas destinés à l'élevage).

Selon notre étude, on a relevé des résistances très élevées pour différentes molécules, notamment l'acide nalidixique, la tétracycline et l'amoxicilline, avec un pourcentage de 85%.

Dans d'autres études, à savoir l'étude de Messai et al., 2023, un pourcentage de résistance plus élevé pour l'amoxicilline était obtenu, qui est de l'ordre de 90,9%.

Une autre étude de Nassik et al.,2023, a révélé un pourcentage de résistance de *Escherichia coli* à l'amoxicilline avec un taux de 92,10% , suivie d'une résistance à la tétracycline qui est de 84,21% et une résistance de 50% à l'acide nalidixique.

D'autres antibiotiques, comme l'AMC et la lévofloxacine, ont des pourcentages de résistance aux antibiotiques variant de 38 à 50 %, ce résultat de résistance qu'on a obtenu est très proche de celui trouvé par (Malama *et al.*,2023) avec un taux de 54.6%.

Des résistances plus faibles étaient enregistrées pour les céphalosporines et la fosfomycine qui varient entre 7 et 21%, une différence est constatée entre notre résultat et les travaux de (Aberkane *et al*,2023) où il y a eu des pourcentages de résistance plus élevés.

Conclusion

Notre travail consistait à étudier la colibacillose sur une période de trois mois dans la région de Freha, et nous avons conclu les points suivants :

- La majorité des élevages étaient touchés par la colibacillose aviaire (44 %).
- Les bâtiments les plus touchés par la colibacillose aviaire étaient ceux qui avaient un effectif de plus de 2000 sujets.
- Les bâtiments les plus touchés étaient où le vide sanitaire était réalisé ainsi que la désinfection « **C'est pour ça qu'on recommande la réalisation de ce dernier dans les normes** ».
- La majorité des souches étaient résistantes à plus de deux antibiotiques.
- Toutes les souches testées étaient résistantes aux huiles essentielles utilisées (huile de Pin et huile de Saugé).

- A l'issue de ce mémoire, nous recommandons les points suivants :

- Le respect des règles de désinfection et le vide sanitaire
- La conception des bâtiments selon les normes, permettant une bonne atmosphère aux animaux
- Il est crucial d'avoir une gestion zootechnique efficace pour limiter la colibacillose aviaire dans les grands effectifs.
- Afin de minimiser le risque d'échec thérapeutique, il est recommandé de réaliser un antibiogramme avant chaque traitement.

References bibliographiques

A

- Ahmed Messai, Chafik Redha Messai, Tarek Boussaada, Chahrazed Aberkane.,2023
Antimicrobial resistance pattern of avian pathogenic *Escherichia coli* with detection of extended-spectrum β -lactamase-producing isolates in broilers in east Algeria.
- Alain Reynaud, Bernard Joly.,2002
Entérobactéries systématique et méthodes de diagnostic

B

- B.Fantin, A.Poubaix , F.Guérin , V.de Lastours , F.Chau , M.Auzou, V.Cattoir,
Fosfomycine Résistance versus virulence dans la pyélonéphrite expérimentale à *Escherichia coli*.

C

- Chengbo Yu , Xiaoling Deng, Meiling Tan, Meishi Zhang, Ying Sun, Nuohao Jiang ,
Xiangchun Ruan .,2021
In vitro antibiofilm activity of resveratrol against avian pathogenic *Escherichia coli*.

E

- Elizabeth M Darby , Eleftheria Trampari , Pauline Siasat , Maria Solsona Gaya , Ilyas Alav ,
Mark A. Webber , Jessica M .A. Blair.,2001
Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited.

F

- Fourough Nowrouzian , Ingegerd Adlerberth and Agnes E.Wold ,Nahid Karami
Tetracycline Resistance in *Escherichia Coli* and Persistence in the Infantile Colonic Microbiota

G

- Geoffrey Mainda, Steward Mudenda , Sydney Malama Musso Munyeme , Scott Kaba Matafwali , Penjaninge Kapila, Patrick Katemangwe, , Geoffrey Mainda , Andrew Nalishuwa Mukubesa, Mwendalubi Albert Hadunka and John Bwalya Muma.,2023

Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* isolated from laying hens in Zambia: implications and significance on one health .

H

- Hayate bouharb, Jalila El amri, Khalid Elbadaoui, Touria Zair, Hayate bouharb, Saïd chakir, Taj Imolk Alaoui., 2014.

Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées

I

- Ilyas Alav,Elizabeth M Darby , EleftheriaTrampari , Pauline Siasat , Maria Solsona Gaya , Mark A. Webber , Jessica M .A. Blair.,2001

K

- Kadiri Ahlam, Fatima Zahra El Ftouhy, Asma Fagrach, Nassik Saâdia.,2023

Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella* Species Isolated from Table Eggs in Morocco

L

- Lhoussaine OUBOUYAHIA , Saadia NASSIK.,2021

Colibacillose aviaire au Maroc : Infection redoutable à double impact

M

- MAINIL.J, STORDEUR .P.,2001

La colibacillose aviaire

N

- Nadir Alloui, Sassi Sellaoui.,2012

Traité d'immunopathologie des volailles.

- Niranjan Koirala.,2021

Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects
Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects.

Annexes

Annexe N°1 : Questionnaire

Fiche d'enquête

- + Type de bâtiments.....**
- + Effectifs.....**
- + Age.....**
- + Mortalité.....**
- + Réalisation de la désinfection.....**
- + Réalisation d vide sanitaire.....**

Annexe N°2: Matériel utilisé

| Appareillages | Outils du laboratoire | Milieux de culture | Autres produits |
|---|--|---|--|
| -Etuve d'incubation à 37°C. -Vortex -Bain marrie. -Microscope optique. -Autoclave. -Four Pasteur. -Séchoir | -Bec Bunsen. -Ciseaux. -Micropipette -Pipette Pasteur. -Anee de platine. -Micropipette. -Pince métallique. -Tubes à essais stériles. -Lame. -Ecouvillons. -Bec Bunsen. -Bocal contenant l'eau de javel. -Embouts. -Portoir. -Cryotubes. | -Gélose Hecktoen. -Gélose Muller Hinton (MH). -Gélose Mac Conkey. -Solution de BHIB. -Eau peptonée tamponnée. -Milieu de conservation. -Glycérol. | -Violet de Gentiane. -Ecouvillons. -Lugol. -Alcool à 96%. -Fushine. -Glycérol. -Disques d'oxydase. -Eau oxygénée (H ₂ O ₂). -Disques d'antibiotiques. Réactifs VP (VP1et VP2). -Réactif Covax. -Réactif TDA. -Alcool. -Huile de vaseline. -Eau physiologique stérile. -Eau distillée. -Désinfectant (Eau de javel). -Etiquettes |

Annexe -3-: Photos du matériel utilisé



Figure-29- : Séchoir(photo prise aulaboratoire) (originale 2024)



Figure -30- : cryotubes (Photo prise au labo) (originale 2024)



Figure-31- : Etiquettes (photo prise aulaboratoire) (originale 2024)

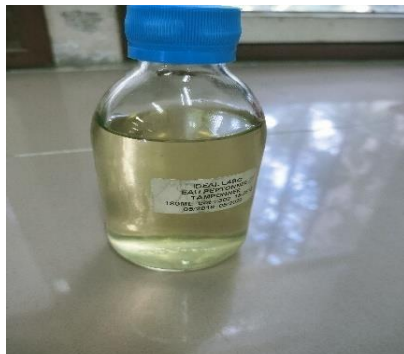


Figure-32- :
Eau peptonée tamponnée (Photo prise au laboratoire) (originale



Figure-33- : Tubes de conservation (Photo prise au laboratoire) (originale 2024)



Figure-34- : Flacon d'eau physiologique (photo prise au laboratoire) (originale 2024)



Figure-35- :
Flacon contenant de lagélose Hecktoen (Photo prise au labo) (originale 2024)

Annexe -4- : Méthodes utilisées

✚ Coloration de gram

-On commence d'abord par la réalisation d'un frottis bactérien et cela par le dépôt d'une goutte d'eau physiologique sur une lame à laquelle on ajoute une colonie issue d'une purification bactérienne.

-Avec une pipette pasteur on étale la colonie et procède au séchage pour la fixation.

-Une fois fini, on commence la coloration par l'ajout du violet de gentiane et du lugol pur fixer puis de l'alcool pour décolorer, ensuite l'ajout de la fushine puis on rince.

-Après avoir fini, on laisse les lames sécher et on observe au microscope optique (on ajoute une goutte de l'huile essentielle avant d'observer au microscope)

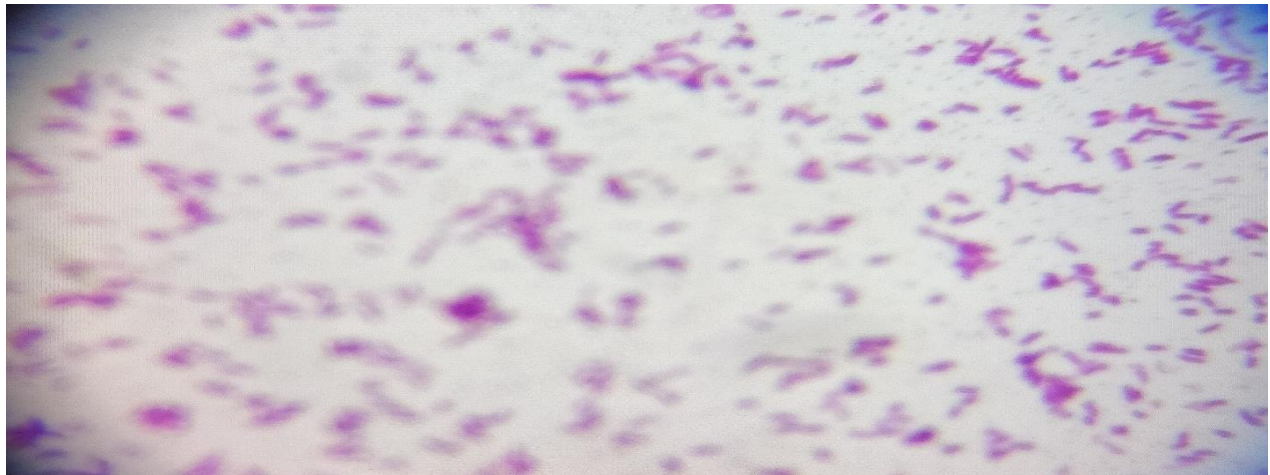


Figure -36- : *Escherichia coli* vu sous microscope optique (Photo prise au laboratoire)

✚ Test d'oxydase :

-Dans la zone stérile, on prend une boîte de pétri stérile dans laquelle on va mettre le disque d'oxydase. Une fois cette étape est finie ; et avec une pipette pasteur, on racle une colonie (issue de la purification) et on la frotte sur le disque.

-Si la bactérie est oxydase (+) il y aura un changement de couleur immédiat du disque.

-Et si la bactérie est oxydase (-), on ne verra pas un changement de couleur du disque.

✚ Test de catalase

-Devant la zone stérile, on prend une lame (qu'on va bien nettoyer) sur laquelle on dépose une goutte de H₂O₂ (eau oxygénée), puis avec une pipette Pasteur, on racle une colonie de la boîte purifiée et on la mélange avec le H₂O₂.

-Le résultat positif est obtenu grâce à l'apparition des bulles d'air dans le H₂O₂.

Galerie API

1-Préparation de la galerie :

- Dans cette étape ; on doit réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

-Puis on dépose stérilement la galerie d'API dans la boîte d'incubation.

2-Préparation de l'inoculum :

-On prend un tube contenant de l'eau physiologique stérile, puis on va prélever une seule colonie bien isolée issue de la purification qu'on va mettre dans de l'eau physiologique

Pour obtenir une suspension bactérienne.

3-Inoculation de la galerie :

-Dans cette étape on doit :

-Remplir les tubules et les cupules des tests du type CIT

-Remplir les tubules des tests du type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.

-Remplir uniquement les tubules des tests restants

Aromatogramme :

1-On prépare le matériel à utiliser ; les Eppendorf, la DMSO, les huiles essentielles qu'on veut tester (dans notre cas c'est l'huile de sauge et l'huile de pin).

2-Une fois que le matériel est prêt, on commence notre aromatogramme et pour cela :

-On numérote chaque Eppendorf avec une dilution (allant de 1/2 jusqu'à 1/128)

- Une fois c'est fait, on met 200 µl de DMSO dans chaque Eppendorf (le changement de l'embout n'est pas nécessaire dans cette étape).

Puis on met 400 µl de l'huile pure dans un Eppendorf à part (pour le garder comme huile pure)

Ensuite, avec une micropipette, on prend 200 µl de l'huile pure qu'on va mettre dans l'Eppendorf contenant la DMSO avec une dilution au 1/2, on agite bien l'Eppendorf puis on met 200 µl du mélange (huile pure +DMSO) dans l'Eppendorf contenant la DMSO avec une dilution au 1/4 et ainsi de suite jusqu'à la dilution 1/128.

On prépare par la suite une suspension bactérienne (bactérie +eau physiologique) puis on mesure la DO à 625 nm. (La DO doit être de 0.08 à 0.1)

-On ensemence le milieu MH avec des stries serrées, on pose les disques (disques fait avec du papier wattman), un disque d'antibiotique comme témoin positif, et on imbibe avec l'huile pure l'un des disques (témoin négatif).

-On prend une micropipette, et prélève 10 µl de chaque Eppendorf (on commence par le moins concentré $1/128$ vers le plus concentré $1/2$) et on imbibe chaque disque avec la dilution adéquate.

-On met les boites après avoir fini 2h au frigo, puis on les incube à 37°C pendant 24h.

3-On a obtenu après ces étapes les résultats suivants :



Figure -37- : Résultats de l'aromatogramme (Photos prises au laboratoire)

- On constate qu'il y a eu aucune zone d'inhibition dans le cas des deux huiles.

✚ Antibiogramme :

Après avoir fait toutes les étapes de l'antibiogramme, on a obtenu le résultat suivant :

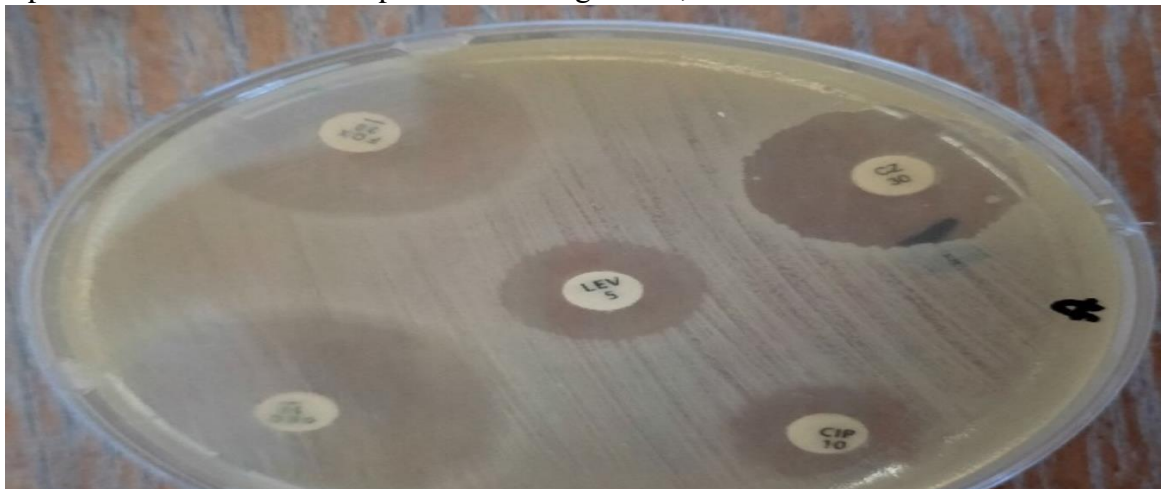


Figure -38- : un exemple de boite ensemencée (Photo prise au laboratoire)

-Vient la dernière étape de toute l'expérimentation qui est :

✚ **La conservation** : qui se fait par 2 méthodes différentes soit :

