

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE MOULOD MAMMERRI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE

Mémoire

De fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

**Profils d'antibiorésistance et essais de détection de facteurs
de virulence de souches d'*Escherichia coli* d'origine
aviaire**

Présentée par : HAMICHE Baya

BENAMEUR Fatima

Soutenu publiquement le : 24 / 10 / 2019 devant le jury composé de :

<i>Président</i> :	Mme SENANI. N	Maître de conférences	UMMTO.
<i>Examineur</i> :	Mr SEBBANE. H	Maître Assistant classe A	UMMTO.
<i>Promotrice</i> :	Mme MEGUENNI. N	Maître de conférences	UMMTO.
<i>Co-promotrice</i> :	Mme KECHIH. S	Docteur vétérinaire	LVRTO.

2018/2019

Remerciements

Remerciements

A travers ce travail, nous tenons à adresser, et à exprimer nos profondes gratitude et nos plus chaleureux remerciements à :

*Notre promotrice et enseignante, madame **MEGUENNI Nassima**, maître de conférences à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour avoir acceptée de nous encadrer. Pour tous les conseils techniques, les encouragements, sa gentillesse et les orientations qu'elle nous a prodigués durant la préparation de notre mémoire.*

*Mme **KECHIH-BOUNAR Saliha**, Docteur vétérinaire et Directrice du laboratoire Régional vétérinaire de Draa Ben Kheda de Tizi-Ouzou, d'avoir acceptée de Co-encadrer ce travail et de nous avoir accueillis dans son équipe au laboratoire dans le service Bactériologie.*

Nous remercions aussi nos enseignants de la filière microbiologie. Sans oublier nos anciens et amis en particulier Mme Landri. G et Mr Bacha. H (ex chef de service de la scolarité). Vos grandes qualités scientifiques, intellectuelles et votre sympathie nous inspirent admiration. Profonde reconnaissance.

*Et notre profonde reconnaissance à Mr **AKLI Djamel**, chef de service, pour son aide, sa compréhension, sa patience, sa gentillesse exemplaire et ses précieux conseils dans le service bactériologie. Nous remercions énormément Mme Nadia de même service pour ses encouragements ainsi que pour l'ambiance sympathique qu'ils ont créée au sein du laboratoire.*

Sans oublier Mer Allam. R du service stérilisation, merci du fond du cœur. Nous adressons nos remerciements à toutes les personnes ayant participé De près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Nous exprimons nos profonds remerciements au président et membres de Jury pour avoir accepté de juger ce modeste travail :

- *Président : Mme SENANI. N*
- *Examineur : Mr SEBBANE. H*
- *Promotrice : Mme Meguenni. N*
- *Co-promotrice: Mme KECHIH. S*

Et enfin nous n'oublions pas de dire merci à tous nos amis et amies du cycle et hors cycle avec qui nous avons lié amitié et entraide à l'université et à la cité universitaire, valeurs que nous ferons perdurer dans le temps et dans l'espace.

Dédicaces

Je dédie mon travail à :

À mes chers parents, symboles de sacrifices, de tendresse et d'amour. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que dieu le très haut, puisse vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mes sœurs, Je vous remercie pour tous les encouragements et le soutien moral tout au long de mes études.

À mon petit, je vous dédie ce travail avec tous vœux de bonheur, de santé et réussite.

À mon beau-frère, Je vous remercie d'être toujours avec moi au moindre souci.

À tous les membres de ma famille : oncles et tantes maternelles et paternelles.

À la mémoire de mes grands-parents, j'aurais souhaité votre présence en ce moment pour partager ma joie, vous êtes toujours dans mon cœur.

*À tous mes amis en particulier à mon binôme Baya
Ainsi à tous ceux qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail...*

Lysa

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A tous ceux qui me sont chers :

A ma très chère adorable mère ;

A ma très chère petite famille ;

A Lysa, Célia.S, Kahina.C, Kenza;

A tous mes ami (es) ...

Baya

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction.....1

Première parties : Recherche bibliographique

Chapitre1 : Généralités sur *Escherichia coli*

1.1. Introduction.....2

1.2. La colibacillose aviaire.....2

1.3. Biologie.....2

1.4. *Escherichia coli*.....2

Chapitre 2 : Caractéristiques phénotypiques liés à *Escherichia coli*

2.1. Caractéristiques bactériologiques de l'espèce.....5

2.1.1 Morphologie.....5

2.1.2. Caractères cultureux.....5

2.1.3. Caractères biochimiques.....6

2.1.4. Structure antigéniques.....6

2.2. Classification7

Chapitre 3 : Généralités sur les antibiotiques

3.1. Antibiotiques9

3.2. Principes généraux de l'antibiothérapie9

3.3. Mode d'action des antibiotiques.....9

3.4. Classification des antibiotiques9

3.5. Les antibiotiques utilisés en espèce aviaire.....16

Chapitre 4 : Antibiorésistance

4.1. Définition de l'antibiorésistance.....17

4.2. Origine de l'antibiorésistance17

4.3. Mise en évidence (Antibiogramme)18

4.4. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....18

Chapitre 5 : La virulence et facteurs de virulence

5.1. Introduction.....	21
5.2. Définitions.....	21
5.2.1. La virulence.....	21
5.2.2. Facteurs de virulence.....	21
5.3. Résistance au sérum.....	21
5.4. La fixation du rouge Congo.....	21

Deuxième partie : Matériels et méthodes

1. Matériels	23
1.1. Matériels biologiques	23
1.2. Matériels du laboratoire.....	23
2. Méthodes	25
2.1. Prélèvements.....	25
2.2. Isolement	26
2.3. Identification bactérienne.....	26
2.4. Etude de la résistance aux antibiotiques.....	29
2.5. Contrôle de qualité.....	30
2.6. Conservation des souches.....	31
2.7. Recherche des facteurs de virulence.....	31

Troisième partie : Résultats et discussion

1. Résultats	33
1.1. Isolement	33
1.2. Identification	33
1.3. Résultats des antibiogrammes	40
1.4. Résultats des tests de la recherche des facteurs de virulence.....	43
2. Discussion	45
Conclusion	49

Référence bibliographique

Annexes

Liste des abréviations

E. coli : *Escherichia coli*

E. coli ATCC : *Escherichia coli* Américain type culture collection

InPEC : *E. coli* pathogène intestinal

EPEC : *E. coli* entérotoxigènes)

EPEC : *E. coli* entérotoxigènes

EIEC : *E. coli* entéro-invasives

EHEC : *E. coli* entérohémorragiques

EAEC : *E. coli* enteroaggrégatives

AIEC : *E. coli* adhérentes invasives

ExPEC : *E. coli* pathogènes extra-intestinaux

UPEC : *E. coli* uropathogènes

SEPEC : *E. coli* associées à la septicémie

NMEC : *E. coli* associées à la méningite néonatale

APEC : *Escherichia coli* pathogène aviaire

ATB : Antibiotique

CASFM : Comité des antibiogrammes de la Société Française de Microbiologie

TSI: Triple Sugar Iron

ONPG: Orthro-Nitro-Phenyl-Galactopyranoside

BHIB: Bouillon Brain heart infusion

MH : Mueller-Hinton

AgK : Antigène capsulaire K

AgH : Antigène flagellaire H

RC: Rouge Congo

Iss: *Increased gene survival*

LPS : Lypopolysaccharide

Unités

µg : Microgramme,

µl : Microlitre

Liste des figures

Figure 1 : Escherichia coli sous microscope électronique à G X 1000(25).....	5
Figure 2 : mode d'action des antibiotiques.....	10
Figure 3 : Structure chimique du Rouge Congo 2010.....	22
Figure 4 : organes découpés.....	25
Figure 5 : Isolement d' <i>E.coli</i> sur milieu Hektoen.....	33
Figure 6 : <i>Escherichia coli</i> observée au microscope optique au grossissement(Gx100).....	34
Figure 7 : Résultat du test de l'urée-indole.....	35
Figure 8 : Photos illustrant le résultat du test de la catalase.....	36
Figure 9 : Photo illustrant le résultat du test TSI (Triple Sugar Iron)	36
Figure 10 : Photos illustrant le test de l'oxydase.....	37
Figure 11 : Résultat du test mannitol-mobilité.....	38
Figure 12 : Résultats du test ONPG.....	39
Figure 13 : Profil d'antibiorésistance des souches d' <i>E.coli</i>	41
Figure 14 : Photos de la souche résistante à la colistine à 100%.....	42
Figure 15 : Répartition des souches positives selon le type de prélèvement.....	42
Figure 16 : Les photos A et B illustrent les colonies de <i>E. coli</i> fixatrice du rouge Congo.....	43
Figure 17 : C et D photos illustrant les colonies d' <i>E.coli</i> non fixatrice du rouge Congo.....	43
Figure 18 : Résultats de la recherche phénotypique du facteur de virulence (RC).....	44
Figure 19 : Résultat de la résistance au sérum bovin.....	44
Figures 20 : Illustration des résultats de l'antibiogramme.....	77
Figure 21 : Contrôle de qualité.....	78
Figure 22 : Souches conservées.....	78
Figure 23 : Structure chimique du cycle β -lactame.....	79
Figure 24 : Structure chimique de la streptomycine.....	79
Figure 25 : Structure chimique de la tétracycline et chlorotétracycline.....	79
Figure 26 : Structure des quinolones.....	80
Figure 27 : Structures chimique de la colistine A (polymyxine E)	80
Figure 28 : Structures chimique du sulfaméthoxazole et triméthoprime.....	80
Figure 29 : Structure chimique du chloramphénicol.....	81
Figure 30 : Structure de la streptomycine.....	81

Liste des tableaux

Tableau I : Lésions induites par E. Coli selon sa virulence	04
Tableau II : Les caractères biochimiques d'Escherichia coli.....	06
Tableau III : Classification des antibiotiques selon leurs sites d'action.....	10
Tableau IV : les disques d'antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.....	24
Tableau V : Les principaux tests biochimiques discriminant l'identification d' <i>E. coli</i>	27
Tableau VI : Taux de résistance de souches d' <i>E.coli</i> aux 18 antibiotiques testés.....	40
Tableau VII : Souches d' <i>Escherichia coli</i> dans des échantillons d'organes aviaires.....	60
Tableau VIII : Résultats des tests biochimiques réalisés sur les souches.....	64
Tableau IX : Profil de résistance des souches testées.....	66
Tableau X : Limites des diamètres des zones d'inhibitions pour ATCC 25922.....	73
Tableau XI : Le profil de sensibilité de l'ATCC 25922.....	74
Tableau XII : Résultats des tests de virulences des souches testées.....	75

Liste des annexes

Annexe 01 : Milieux de culture et compositions.....57

Annexe 02 : Tableaux.....60

Annexe 03 : Figures77

Résumé

L'objectif de cette étude est de déterminer les profils de résistance aux antibiotiques de souches *Escherichia coli* potentiellement pathogènes (Avian Pathogenic *E. coli* ou APEC), isolés à partir de 150 échantillons d'origine aviaire issus de lésions de colibacillose et provenant des différentes régions du Centre algérien. Cette étude a également consisté à rechercher des facteurs de virulence phénotypique. Elle a montré que la quasi-totalité des souches isolées étaient résistantes à la tétracycline avec un taux élevé de (98%). De forts taux de résistance ont été remarqués pour : l'amoxicilline (84%), l'acide nalidixique (76%), l'enrofloxacin (70%). Des taux moins importants vis-à-vis de l'association amoxicilline + acide nalidixique (68%), l'ampicilline (62%), le Marbofloxacin (58%) et l'association sulfamide-triméthoprimés (54%).

On a obtenu un taux de (20%) notamment pour de molécule de dernier recours, la colistine, et de faibles taux de résistance ont été observés pour l'imipénème, céftiofur, céftazidime et la gentamicine avec (6%), (10%), (10%) et (8%), respectivement.

Les résultats de la recherche des facteurs de virulences ont révélé que la totalité des souches testées étaient résistantes au sérum bovin tandis que les fréquences observées pour la fixation du rouge Congo ont révélé que la quasi-totalité des souches étaient fixatrices du RC avec un taux de (64%), ce qui a confirmé leur potentiel de virulence.

Mots clés : *Escherichia coli*, APEC, pathogène, antibiotique, résistance, virulence, rouge Congo.

Summary

The aim of this study is to determine the antibiotic resistance profile of potentially pathogenic strains of *Escherichia coli* (Avian Pathogenic *E. coli* or APEC), isolated from 150 samples of avian origin from colibacillosis lesions and from different regions of the Algerian center. This study also investigated phenotypic virulence factors associated with APEC including serum resistance and fixation of Congo red.

The antibiogram analysis showed that almost isolated strains were resistant to tetracycline with a high level of (98%). Furthermore, high levels of resistance were noted for: amoxicillin (84%), nalidixic acid (76%), Enrofloxacin (70%). Lower levels of amoxicillin + nalidixic acid (68%), ampicillin (62%), Marbofloxacin (58%) and sulfamide-trimethoprim (54%).

A rate of (20%) was obtained, especially for the last-resort molecule, colistin, and low levels of resistance were observed for imipenem, ceftiofur, ceftazidime and gentamicin with (6%), (10%), (10%) and (8%), respectively.

With regarding, virulence factors, the results have shown that all the strains tested were resistant to bovine serum. While for the fixation of Congo red the frequencies revealed that 64% of strains were CR-binding, this results confirmed their potential of virulence.

Key words: *Escherichia coli* pathogenic avian; antimicrobial resistance and virulence, Congo red

Introduction

Introduction

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 appelée “Avian Pathogenic *E. coli*” ou APEC et appartenant à des sérotypes bien particuliers sont associées au syndrome de la colibacillose (STORDEUR ET MAINIL, 2002).

La voie d’entrée principale de l’agent pathogène est le tractus respiratoire, via l’inhalation de particules de poussière contaminées par des *E. coli* excrétées du tractus digestif d’animaux sains. Les intestins sont, en effet, le réservoir le plus important des *E. coli* pathogènes aviaires ou APEC (STORDEUR et MAINIL, 2002 ; HAMMOUDI, 2008).

Le contrôle des colibacilloses aviaires est principalement assuré par des traitements aux antibiotiques, 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.

L’utilisation abusive et souvent empirique des antibiotiques lors de l’apparition des signes cliniques (Prostration, bruits respiratoires) est mise en cause dans la sélection de souches bactériennes résistantes à un ou plusieurs antibiotiques (FILALI et *al.*, 1989 ; (AMARA et *al.*, 1994).

L’objectif de cette étude est l’évaluation du niveau de l’antibiorésistance chez les souches d’*E. coli* isolées de cas de septicémies colibacillaires dans les élevages avicoles dans la région du Centre Algérien.

Notre travail comporte :

- Une Synthèse bibliographique,
- Une partie expérimentale s’articulant sur deux volets :
 - Etablir le profil phénotypique de résistance aux antibiotiques des souches d’*E.coli* aviaires, issues de lésions de colibacilloses ;
 - Une caractérisation de la pathogénicité des souches testées par le test du rouge Congo et la résistance au sérum bovin.
- Conclusion et discussion

*Première partie : Recherches
bibliographiques*

Chapitre 1 : Généralités

Chapitre I. Généralités

1.1. Introduction

La colibacillose aviaire est une des maladies les plus fréquentes en élevage de volaille, son évolution ces dernières années, entraîne une utilisation importante d'antibiotiques, générant des risques d'antibiorésistances (BRUGERE-PICOUX, 2015).

1.2. La colibacillose aviaire

Est une maladie provoquée par une bactérie (*Escherichia coli*). Chez les volailles, 10 à 15 % des colibacilles pathogènes sont des hôtes normaux du tube digestif. Ils s'installent sur des lésions préexistantes (par exemple irritation de l'appareil respiratoire par une atmosphère viciée, ou par un agent infectieux), ou sur animal affaibli. La colibacillose aviaire est la principale cause de grosses pertes économiques dans le monde de l'aviculture (BRUGERE-PICOUX, 2015).

1.3. Biologie

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie à Gram- négatif, asporulée, le plus souvent mobile. Elle est présente dans le tube digestif de la volaille et est généralement bénéfique. Mais sur un animal affaibli par une infection virale ou de mauvaises conditions environnementales, le colibacille profite d'une altération des défenses de l'hôte pour proliférer et devenir pathogène. Les colibacilles sont classés selon les antigènes qu'ils portent (BRUGERE-PICOUX, 2015).

1.4. *Escherichia coli*

1.4.1. Historique

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elle fut découverte en 1885 par Théodore Escherich. On trouve *E. coli* de façon commensale dans la flore intestinale et fécale, tant chez les humains que chez certains animaux. La flore intestinale est colonisée peu après la naissance. La bactérie et l'hôte coexistent sans impact sur leur santé respective. Cette coexistence entraîne des bénéfices mutuels (KAPER, NATARO *et al.*, 2004).

E. coli peut non seulement être une bactérie commensale, mais aussi un pathogène. La pathogénèse de ces bactéries se fait par étapes. Tout d'abord elles colonisent une muqueuse. Puis elles se multiplient et causent des dommages à l'hôte (KAPER, NATARO *et al.*, 2004).

On peut séparer les *E. coli* pathogènes en deux catégories, les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC) et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC).

Chacune de ces catégories provoquant différents symptômes. La pathogénicité des souches sont dues à l'insertion de matériel génétique, que ce soit sous forme de transposon, de bactériophage ou de plasmide. Ce matériel génétique incorporé peut contenir des gènes impliqués dans la virulence. (KAPER, NATARO *et al.*, 2004).

1.4.2. Condition de croissance

E. coli pousse dans un milieu ordinaire à température de 18 à 44°C. Après 24h sur un milieu agar à 37°C, les colonies sont réduites, convexes, lisses. Elles ont généralement un diamètre de 1 à 3mm. (PAYNE, 1988).

1.4.3. Résistance

Les *E. coli* sont tués en 1h à 55°C ou en 20minutes à 60°C, mais certaines souches peuvent résister à cette température pendant une demi-heure.

On conserve les cultures sur bouillon pendant 3mois, sur gélose pendant 5à 6 mois et en macération de viande gélatinée jusqu'à 20 ans. Mais la meilleure méthode de conservation est actuellement la lyophilisation. Les germes sont détruits par la plupart des antiseptiques (PAYNE, 1988).

1.4.4. Pathogénicité

E. coli utilise les pili pour coloniser la muqueuse tapissant les voies aériennes. Une fois la muqueuse traversée, l'endotoxémie va, entre autres, attirer les hétérophiles. La bactérie va engendrer une inflammation, ce qui augmente la perméabilité vasculaire et se traduit par l'infiltration d'un exsudat séro-protéique en dehors du compartiment sanguin. Dès lors, le fibrinogène du plasma est converti en fibrine par la thrombine. La présence massive d'hétérophiles et de fibrine va alors générer un exsudat qui devient caséux, et qui sera visible à l'autopsie (BRUGERE-PICOUX, 2015),

Selon la virulence de la souche, les lésions induites seront plus ou moins visibles :

Souche très pathogène	Peu de lésions	Œdème des séreuses, rate hypertrophié et congestionnée
Souche peu pathogène	D'avantage de lésions	Lésions caséuses étendues

Tableau I : Lésions induites par *E. coli* selon sa virulence (peu ou très pathogène) - D'après BRUGERE-PICOUX, 2015

*Chapitre II : Caractéristiques
phénotypiques liés à Escherichia coli*

2. Caractéristiques phénotypiques liées à *Escherichia coli*

2.1. Caractéristiques bactériologiques de l'espèce

2.1.1 Morphologie

E. coli est un bacille de forme cylindrique (bâtonnet) ou coccobacillaire, de 2 à 3 µm de longueur et 0,6 µm de largeur, à Gram négatif, mobile grâce à une ciliature péritriches, non sporulé, encapsulé.

Les colonies développées par cette bactérie ont un aspect bombé, lisse, homogène, ronde à bord régulier et de 2 à 3 mm de diamètre (JOLY et REYNAUD, 2002 ; VAISH *et al.*, 2016).

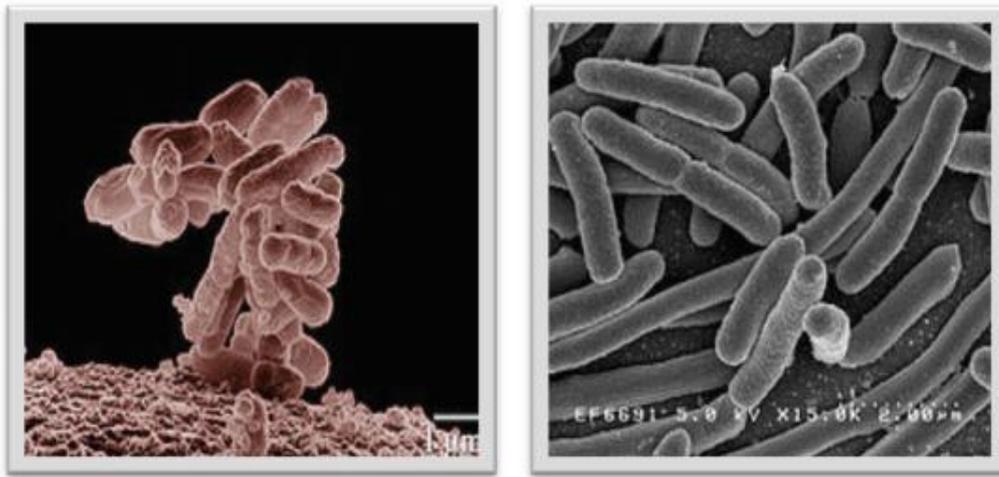


Figure1 : *Escherichia coli* sous microscope électronique à G X 1000 (AVRIL *et al.*, 2000).

2.1.2. Caractères cultureux

E. coli est un germe qui pousse sans difficulté sur les milieux ordinaires. Il est aérobie et anaérobie facultatif. Il se développe à une température de 37°C. Son pH optimum se situe entre 7 et 7,2 mais il supporte très bien des pH de 5,5 à 8 (pH voisin de la neutralité).

E. Coli se multiplie sur la gélose simple ou en bouillon. Dans ce dernier on obtient un trouble homogène après quelques heures d'incubation par agitation. (ANJUM *et al.*, 1989).

E. coli se cultive sur des milieux sélectifs. Ils contiennent des produits inhibiteurs vis-à-vis des bactéries Gram positifs, mais aussi des indicateurs colorés de pH (ex : rouge phénol). Ces milieux facilitent l'isolement de ces bactéries en vue de l'identification (FERNANDEZ *et al.*, 1986).

2.1.3. Caractères biochimiques :

E. coli est catalase positif et oxydase négatif. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille (AVRIL *et al.*, 2006 ; FLAUDROIS, 2004 ; EDLER, 2001 ; LOBRIL, 1998).

Tableau II : Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* (FLAUDROIS JP, 2004).

Test	T S I	L A C	G L U	O N P G	H 2 S	G A Z	M A N	M O B	U R E	I N D	L D C	O D H		A D H	T D A	R M	V P	C I T
Résultat	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+/-	+/-		+/	-	+	-	-

(+) : caractère positif. (-) : caractère négatif. (+/-) : caractère variable.

2.1.4. Structure antigéniques

Les principaux antigènes des *Escherichia coli* sont :

a- Les antigènes (O)

E. coli possède une composition lipopolysaccharidiques qui longtemps a permis la caractérisation des *E. coli* par des tests sérologiques. (SOUMAILA GARBA, 2012).

b- Les antigènes (H)

La diversité des antigènes H est due aux différents types de flagelline (la composante essentielle du flagelle) (SOUMAILA GARBA, 2012).

c- Les antigènes (K)

Trois types d'antigènes(K) qui sont désignés par les lettres L, A et B.

_ L'antigène (L) c'est un antigène de surface. Il est thermolabile (détruit en 30 minutes à 100°C). Le chauffage par conséquent va provoquer une perte du pouvoir antigénique.

_ L'Antigène (A) c'est un antigène capsulaire, rencontré chez les *E. coli* responsables d'infections urinaires. Il est thermostable et n'est détruit que par autoclavage.

_ L'Antigène (B) est rencontré chez les souches d'*E. coli* responsables de gastro-entérite infantile. Il est thermolabile et détruit en 30 mn à 100°C (SOUMAILA GARBA, 2012).

2.2. Classification :

2.2.1. Classification selon bergye's :

La classification d'*Escherichia coli* selon le BERGEY'S MANUAL 2012

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gamma Proteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia (E. coli)*

2.2.2. Classification selon le pathotypes

- ***E. coli* pathogènes intestinaux**

Les souches d'*E. coli* pathogènes intestinales (InPEC) peuvent être regroupées en six catégories

- Les *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC)
- Les *E. coli* entérotoxinogènes (EPEC)
- Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC)
- Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC)
- Les *E. coli* enteroaggrégatives (EAEC)
- Les *E. coli* adhérentes invasives (AIEC)

- ***E. coli* pathogènes extra-intestinaux**

Les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux ou (ExPEC), ne causent pas d'infections quand ces souches se trouvent dans le tractus intestinal. Cependant lorsqu'elles colonisent des tissus hors de l'intestin, elles peuvent générer des infections importantes (JOHNSON AND RUSSO 2002). Les ExPECs possèdent une grande diversité de facteurs de virulence (JOHNSON AND RUSSO 2002).

Les ExPECs peuvent être regroupées en quatre catégories :

- Les *E. coli* uropathogènes (UPEC),
- Les *E. coli* associées à la septicémie (SEPEC),

- Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC),
- Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC).

➤ ***Escherichia coli* pathogènes aviaires (APEC)**

Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) affectent les voies respiratoires de la volaille. Elles peuvent aussi causer des péricardites et des septicémies. Ces pathogènes sont responsables d'importantes pertes économiques (Kaper, Nataro *et al.*, 2004)

***Chapitre III : Généralités sur
les antibiotiques***

3. Généralités sur les antibiotiques

3.1. Antibiotiques

3.1.1. Définition

Un antibiotique est toute substance chimique, quelle que soit son origine, agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries (FERRON, 1986).

Un antibiotique diffère d'un antiseptique. Ce dernier correspond à une substance ayant pour but de détruire des germes pathogènes ou d'empêcher leurs multiplications sur la peau et les muqueuses d'une manière non spécifique.

3.2. Principes généraux de l'antibiothérapie

3.2.1 Objectifs de l'antibiothérapie

- L'objectif d'un antibiotique est d'éradiquer directement ou indirectement la bactérie.
- En médecine aviaire, le traitement antibiotique doit, avant tout, diminuer les pertes économiques liées à la maladie, impactant l'éleveur ou même l'ensemble de la filière.

3.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques par :

- **Toxicité sélective au niveau de la :**
 - Synthèse de la paroi bactérienne
 - Membrane cytoplasmique
 - Synthèse des protéines
 - Acides nucléiques

- **Inhibition compétitive :**

Dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (MOHAMMEDI, 2016).

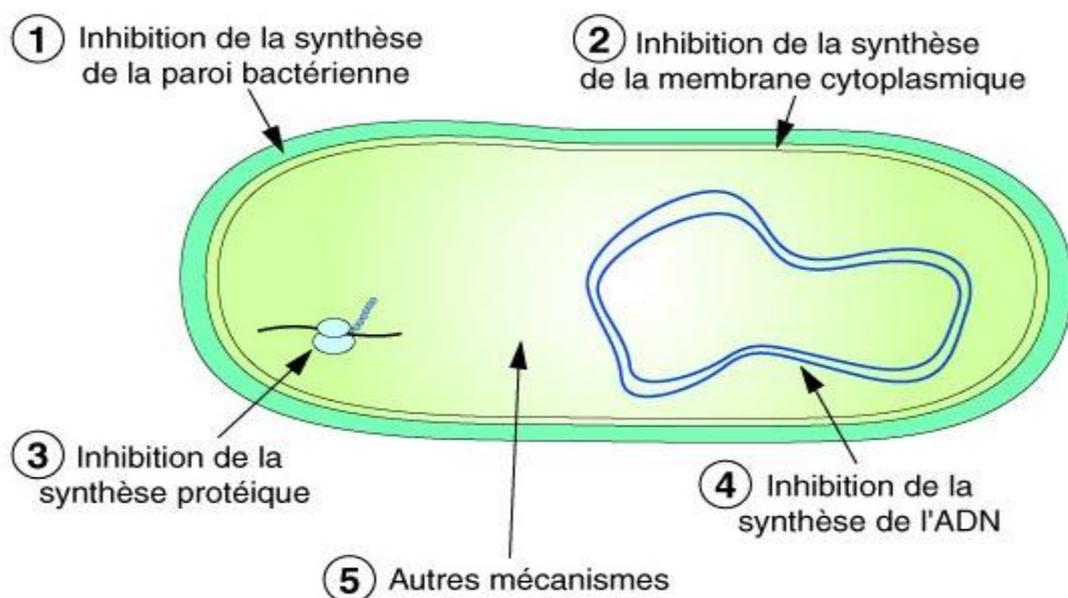


Figure 2 : mode d'action des antibiotiques (MOHAMMEDI, 2016).

3.4. Classification des antibiotiques

3.4.1. Selon le site d'action

Les antibiotiques agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises. Pour exercer leur action, ils doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques, le plus souvent intracellulaires (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

Tableau III : Classification des antibiotiques selon leurs sites d'action. Adapté de Prescott *et al.* (2010).

Mode d'action	Antibiotiques
Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	β - lactamines Glycopeptides
Modification de la perméabilité de la membrane Cytoplasmique	Polymyxines
Inhibition de la synthèse protéique	Aminosides Macrolides Tétracyclines chloramphénicol
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	Rifampicine Quinolones
Inhibition des voies métaboliques de l'acide folique	Sulfamides Triméthoprime

3.4.2. Classification selon l'origine

- **Les antibiotiques naturels**

Produits par les micro-organismes :

- Champignons : Pénicilline produite par penicillium, Céphalosporine produite par
- Bactéries : Streptomycine produite par streptomyces.

- **Les antibiotiques synthétiques**

Produits obtenues entièrement par voie chimique, exemple des sulfamides, acide nalidixique et les fluoroquinolones.

- **Les antibiotiques semi-synthétiques**

Ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffée un radical chimique, comme la méticilline qui est synthétisée à partir de la pénicilline (FOURNIER, 2006).

3.4.3. Classification selon l'effet antibactérienne

Comme les désinfectants les antibiotiques peuvent être, soit bactéricides ; soit bactériostatiques (SINGLETON, 2005).

- **Bactériostatiques**

C'est le ralentissement ou inhibition de la multiplication des germes dans un milieu donné. Au bout d'un temps donné, en présence d'antibiotiques, le nombre de germes bactériens vivants est inférieur au nombre de germes qui seraient vivants dans un milieu de culture identique mais en absence d'antibiotiques. On définit alors une concentration minimale inhibitrice (CMI). (COHEN ET JACQUOT, 2008).

- **Bactéricides**

La bactéricidie consiste en la destruction d'une partie de la population d'une souche bactérienne (SOILLEUX, 2007). Certains antibiotiques manifestent une action bactéricide. Ils tuent les germes dans le milieu de culture. Au bout d'un certain temps, le nombre de germes visibles a diminué par rapport à leur nombre avant incubation. On définit alors une concentration minimale bactéricide (CMB). (COHEN et JACQUOT, 2008).

3.4.4. Classification selon la nature chimique

3.4.4.1. Bêtalactamines

Les β -lactamines représentent les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections dues aux entérobactéries. Cette large utilisation est liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à la diversité de leurs structures. (PHILIPPON, 2008 ; ROBIN *et al.*, 2012).

- **Structure et classification**

Les β -lactamines possèdent un noyau commun appelé β -lactame, qui contient la structure carbonyle lactame indispensable pour l'activité de ces molécules.

A partir de cette structure, cinq groupes ont été développés par adjonction d'un cycle latéral : les pénèmes, les céphèmes, les pénèmes, les monobactames et les inhibiteurs de β -lactamases (CAVALLO *et al.*, 2004).

- **Pénèmes (Pénicillines)**

Il s'agit d'un groupe de molécules, ayant en commun le noyau pénème, qui est caractérisé par un pentacycle saturé (cycle thiazolidine) associé au noyau β -lactame. Selon la nature de la chaîne latérale, on a défini plusieurs sous-classes, dont les plus utilisées sont les aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) les uréidopénicillines (pipéracilline) et les amidinopénicillines (pivmecillinam) (RUPPE, 2010).

- **Céphèmes (Céphalosporines)**

Leur noyau de base associe un cycle β -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former le noyau céphème (CAVALLO *et al.*, 2004). On distingue ainsi :

- Les céphalosporines de première génération (C1G) : Sont plutôt actives sur les bactéries à Gram positif. Exemples : céfalotine, céfazoline et céfalexine ;

- Les céphalosporines de deuxième génération (C2G) : Ont un spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif. Exemples : céfamandole, céfuroxime, céfoxitine et céfotétan

- Les céphalosporines de troisième génération (C3G) : Ont un spectre étendu à la plupart des entérobactéries. Exemples : céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone et céfopérazone ;

- Les céphalosporines de quatrième génération (C4G) : Sont relativement stables à l'hydrolyse des céphalosporinases. Elles restent actives sur les entérobactéries ayant acquis une résistance aux C3G par hyperproduction d'une céphalosporinase. Exemples : céfépime et cefpirome (RUPPE, 2010).

- **Pénèmes**

Les pénèmes se caractérisent par la présence d'un cycle penta-atomique insaturé collé au cycle β -lactame. En fonction de l'hétéroatome fixé en position 1, on distingue trois groupes : les sulfopénèmes, les carbapénèmes et oxapénèmes (BRYSKIER, 1999). Les carbapénèmes possèdent un très large spectre antibactérien associé à une grande stabilité envers la quasi-totalité des β -lactamases. Elles sont considérées comme traitement de choix des infections

sévères à bactéries à Gram négatif (KATTAN *et al.*, 2008). Quatre molécules sont commercialisées : l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème (NORDMANN et CARRER, 2010).

➤ **Monobactames**

Se caractérisent par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle β -lactame. L'aztréonam est le seul monobactame commercialisé (RUPPE, 2010). Il montre une très bonne activité contre les bactéries à Gram négatif aérobies et plus particulièrement contre les entérobactéries (CAVALLO *et al.*, 2004).

➤ **Inhibiteurs de β -lactamases**

Il s'agit de l'acide clavulanique (clavame ou oxapénème), sulbactam et tazobactam (pénicillines sulfones). Ce sont des β -lactamines à faible activité antibactérienne intrinsèque. Associés à une β -lactamine, ils en restaurent l'activité antibactérienne qu'elle n'avait plus du fait de son hydrolyse par les β -lactamases (CAVALLO *et al.*, 2004). En effet, l'acide clavulanique est utilisé avec l'amoxicilline dans l'Augmentin et la ticarcilline dans le Claventin, alors que le tazobactam est utilisé avec la pipéracilline dans la Tazocilline. Le spectre d'inhibition de ces molécules est limité aux pénicillinases (RUPPE, 2010).

• **Mécanisme d'action des β -lactamines**

Les β -lactamines interfèrent avec les étapes finales de la synthèse du peptidoglycane, polymère majeur de la paroi bactérienne, par inactivation des enzymes appelées protéines liant les pénicillines ou PLP (CAVALLO *et al.*, 2004). Il s'agit d'enzymes d'activité variable (PHILIPPON, 2008).

Les β -lactamines présentent une analogie structurale entre le noyau β -lactame et le dipeptide terminal D-alanyl-D-alanine, du pentapeptide constitutif du peptidoglycane, qui constitue le substrat naturel des PLPs. La fixation du cycle β -lactame sur le site actif des PLPs aboutit à la formation d'un complexe acylenzyme covalent provoquant l'inactivation de ces enzymes. Cette liaison formée a deux conséquences : elle empêche la synthèse du peptidoglycane en inhibant la transglycosylation et la transpeptidation (effet bactériostatique) (TANKOVIC, 2000) et elle entraîne une activation endogène des autolysines bactériennes (effet bactéricide) (BONNET, 2006).

3.4.4.2. Aminosides

Les aminosides ont un large spectre d'activité, leur effet bactéricide rapide constituent des atouts majeurs (NGUYEN et LAMBERT, 2012). Ils sont le plus souvent utilisés en association avec les β -lactamines ou les fluoroquinolones pour leur effet synergique (DOI et ARAKAWA, 2007)

- **Structure et classification**

Les aminosides ou aminoglycosides sont des molécules hydrophiles, basiques et polycationiques. Leur structure de base comporte un cycle central aminocyclitol saturé, relié par des liaisons glycosidiques à deux ou trois hexoses (VAKULENKO et MOBASHERY, 2003). Ce cycle central peut être la streptidine, l'actinamine ou la fortamine mais le plus souvent il s'agit de la 2-désoxystreptamine (DOS). Les 2-DOS regroupent la plupart des composés utilisés en thérapeutique humaine comme : la gentamicine, la tobramycine, l'amikacine et la nétilmicine (NGUYEN et LAMBERT, 2012).

- **Mécanisme d'action**

Chez les bactéries à Gram négatif, Les aminosides diffusent à travers la membrane externe par un système de porines. Une fois dans l'espace périplasmique, le franchissement de la membrane cytoplasmique nécessite un transport actif, oxygène dépendant. Les quelques molécules ayant atteint le cytoplasme se fixent au site aminoacyl de l'ARN ribosomal 16S (Le site A), dans la sous-unité 30S du ribosome (DURANTE-MANGONI *et al.*, 2009). Cette liaison inhibe l'appariement de l'ARNm au ribosome et empêche la traduction et peut causer une mauvaise interprétation du code génétique, conduisant à la synthèse de protéines "nonsens" (KOTRA *et al.*, 2000).

Les protéines nouvellement synthétisées sont incorporées à la membrane cytoplasmique. Elles endommagent son intégrité et facilitent ainsi l'entrée dans le cytoplasme de nouvelles molécules aminosides, qui vont accroître les dommages cellulaires et entraîner la mort de la cellule. Les aminosides peuvent en outre, s'accumuler de façon irréversible dans la cellule bactérienne, altérer la synthèse de l'ADN ou dégrader l'ARN (FORGE ET SCHACHT, 2000).

3.4.4.3. Quinolones

Ce sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ils sont caractérisés par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale et une bonne diffusion dans les tissus (HOOPER ET RUBINSTEIN, 2003).

- **Structure et classification**

La structure chimique des quinolones est un acide pyridine- β -carboxylique avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4 (SOUSSY, 2006).

- **Mécanisme d'action**

Les quinolones interagissent avec le complexe enzyme-ADN (la gyrase ou la topoisomérase IV) et provoquent des changements conformationnels entraînant une désactivation de

l'enzyme. Le complexe quinolone-enzyme-ADN ainsi formé, inhibe la synthèse de l'ADN et conduit à l'arrêt de la croissance bactérienne (SOUSSY, 2006).

3.4.4.4. Les tétracyclines

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre, actifs sur les bactéries à développement intracellulaire (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

- **Structure**

Les cyclines ont une structure polycyclique complexe constituée de 4 cycles, dont un cycle aromatique et 3 autres cycles comprenant des carbones saturés (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

- **Mécanisme d'action**

Les tétracyclines pénètrent dans l'espace périplasmique à travers les porines. Chez les *E. coli*, les porines majeurs sont les Omp F (Protéin outer membran F). Le passage des tétracyclines à travers la paroi (riche en lipopolysaccharide) dépend de leurs degrés de liposolubilité. Puis, elles traversent la membrane cytoplasmique à la fois par diffusion passive et par transport actif. Après avoir traversé toutes les membranes obstacles, l'antibiotique diffuse dans le cytoplasme et atteint sa structure cible : les ribosomes (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

Les tétracyclines sont des inhibiteurs de la synthèse protéique. Le site de fixation de ces molécules est la sous-unité 30S du ribosome. L'interaction codon-anticodon entre l'ARNt et l'ARNm est perturbée, ce qui bloque la phase d'élongation ; c'est-à-dire, l'attachement du complexe ARNt-aminoacyl au site A du ribosome (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

3.4.4.5. Les Polymyxines

- **Structure**

Les polymyxines sont des lipopeptides cycliques ; il s'agit d'un décapeptide dont la chaîne grasse est fixée sur le noyau peptidique. Elles ont été isolées en 1947 à partir de la fermentation du *Bacillus polymyxa* (BRYSKIER, 1999).

- **Mécanisme d'action**

Les polymyxines interagissent avec les lipides membranaires et désorganisent la bicouche phospholipidique de la membrane cytoplasmique, perturbant ainsi son intégrité. Des constituants intracellulaires, tels que les métabolites et ions, fuient en dehors de la cellule, provoquant ainsi la mort de la bactérie (CHARDON et BRUGERE, 2014).

3.4.4.6. Les sulfamides

Les sulfamides sont des dérivés de l'acide para-aminobenzène sulfonique, dans lesquels sont indispensables à l'activité antibactérienne, la présence d'une fonction amine libre et d'un soufre substituant directement le benzène (VAN BAMBEKE *et al.*, 2008).

3.4.4.7. Le triméthoprime

Le triméthoprime est un diamino-pyrimidine. Il a été synthétisé en 1961 par HITCHINGS et BUSHBY. Bien qu'utilisé parfois seul, il doit être associé aux sulfamides (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

- **Mécanisme d'action**

Les sulfamides et le triméthoprime interfèrent la synthèse des acides nucléiques, ainsi la synthèse des protéines. Ces deux antibiotiques interviennent dans la voie de synthèse des thymines (T). Les principales cibles de ces molécules sont les dérivés des folates (Vitamine B9), notamment le dihydrofolate et le tétrahydrofolate, ayant un rôle essentiel dans les réactions de synthèse de cette base azotée (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

3.4.4.8. Phénicols

- **Structure**

Sa molécule comporte un noyau nitrobenzène et deux atomes de chlore. On distingue : le chloramphénicol et le thiamphénicol (KEZZAL, 1993).

3.5. Les antibiotiques utilisés en espèce aviaire

L'utilisation thérapeutique visant l'éradication d'une infection présente, ou la prévention d'une infection possible, à l'occasion d'un transport, d'une vaccination ou d'un stress. La voie d'administration la plus rapide pour traiter un grand nombre d'animaux, est l'eau de boisson ou l'incorporation dans l'aliment. On trouve aussi une utilisation propre à l'élevage de rente : l'usage zootechnique (non thérapeutique). Les animaux reçoivent de manière régulière et prolongée des doses non thérapeutiques d'antibiotiques pour favoriser leur croissance et améliorer la conversion alimentaire (HAMMOUDI, 2009).

Chapitre 4 : Antibiorésistance

4. Antibiorésistance

4.1. Définition de l'antibiorésistance

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'une souche bactérienne de survivre à une concentration élevée d'un antibiotique spécifique. Il n'est pas rare qu'une lignée bactérienne acquière de la résistance à un certain nombre d'antibiotiques, mais elle finira généralement par succomber à l'un de ceux qui existent. Cependant, aujourd'hui, des lignées bactériennes manifestent de la résistance à plusieurs antibiotiques et bien des gens craignent que ces lignées et d'autres finissent par développer une résistance aux derniers antibiotiques efficaces. Des travaux scientifiques récents démontrent la présence de bactéries porteuses de résistance dans certains produits laitiers et carnés, et suggèrent que les antibiotiques utilisés dans l'alimentation animale ou lors de traitements vétérinaires pourraient en être la cause (POYART, 2002).

4.2. Origine de l'antibiorésistance

- **Résistance naturelle (innée)**

Elle concerne en général une espèce bactérienne et est définitive, elle délimite le spectre d'activité antibactérienne de l'antibiotique considéré. Les bacilles à Gram négatif (et notamment les entérobactéries et *pseudomonas*) sont naturellement résistants, le plus souvent à bas niveau, aux antibiotiques hydrophobes ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicines, acide fusidique, novobiocine, vancomycines) car ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi. Certaines espèces (*Klebsiella spp*, *Morganella spp*, *Providencia spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Citrobacter fragilis*, *Bacillus cereus*, *Nocardia spp*, *Mycobacterium spp*.) produisent naturellement des Beta-lactamases (POYART, 2002).

- **Résistance acquise**

Cette résistance correspond à une adaptation des bactéries aux antibiotiques. Ces résistances acquises constituent l'un des plus graves problèmes de l'antibiothérapie, du fait de leur fréquence de plus en plus grande, et de la possibilité de la transmission à l'homme des germes résistants (POYART, 2002).

- **Mutation chromosomique**

Assez peu fréquentes (moins de 10% des cas), elles se traduisent en générale par une modification des sites de fixation et d'action des antibiotiques dans la bactérie. Ce type de résistance est stable, transmis à la progéniture mais non transmissible horizontalement à d'autres bactéries. Le plus souvent, une mutation entraîne la résistance pour un antibiotique appartenant à la même famille (POYART, 2002).

- **Acquisition de gènes de résistance**

Cette résistance est due à l'acquisition d'information génétique exogène portée par des plasmides (ADN extra-chromosomique) ou des transposons pouvant être transférées d'une bactérie à une autre. Cette résistance entraîne la synthèse par les bactéries réceptrices de ce matériel génétique de protéines nouvelles qui vont soit : modifier le système de transport de l'antibiotique (efflux), inactiver l'antibiotique (enzyme telles que la bêta-lactamase), ou bien modifier la cible de l'antibiotique (POYART, 2002).

4.3. Mise en évidence (Antibiogramme)

L'antibiogramme permet de déterminer in vitro la sensibilité des souches bactériennes. C'est une méthode rapide, très utilisée et qui correspond à une mise en contact (dans une boîte de pétri contenant un milieu gélosé) de la souche bactérienne avec des disques imprégnés de différents antibiotiques supposés être efficaces sur la bactérie, La diffusion des antibiotiques dans la gélose entraîne une inhibition de la culture de la bactérie. On mesure le diamètre d'inhibition autour du disque, et on se réfère à des tables qui permettent de supposer que la souche sera : "sensible", "résistante" et "intermédiaire" (SOUMAILA GARBA, 2012).

4.4. Mécanisme de résistance aux antibiotiques

4.4.1. Mécanisme biochimique

Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques soit en se rendant imperméables à leur pénétration, soit en produisant des enzymes capables de les inactiver ou encore en modifiant la structure de leurs cibles (FLUIT et VISSER, 2001).

- **Modification de la perméabilité de la membrane externe**

La résistance par imperméabilité de l'enveloppe des bactéries est uniquement décrite chez les bactéries à Gram négatif, avec une membrane externe et des porines insérées dans cette enveloppe très hydrophobe et laissant passer des petites molécules hydrophiles. Il peut s'agir d'une diminution quantitative d'un ou plusieurs types de porines ou d'une modification de la structure d'une des porines essentielles et qui peut être à l'origine d'une résistance acquise aux bêtalactamines, aux quinolones, au chloramphénicol, aux sulfamides, au triméthoprime et aux tétracyclines (SOUMAILA GARBA, 2012).

- **Modification de la cible ou substitution de la cible pour les sulfamides**

La substitution de cible est un des mécanismes de résistance observés avec les sulfamides et le triméthoprime. Les bactéries produisent des enzymes chromosomiques sensibles et des enzymes plasmidiques résistantes. Une modification par mutation de la

dihydroptéroate synthétase ou de la dihydrofolate réductase confère, respectivement, une résistance aux sulfamides ou au triméthoprim (SOUMAILA GARBA, 2012).

- **Synthèse d'enzymes d'inactivation de l'antibiotique**

Le mécanisme le plus courant de résistance aux β -lactames consiste dans la production, par les bactéries, d'enzymes hydrolysant l'antibiotique, appelés β -lactamases. Ces enzymes sont secrétés à l'intérieur dans le cas des Gram (+), mais maintenus dans l'espace périplasmique dans le cas des Gram (-). Il s'agit de protéases à sérine active, qui se lient aux β -lactames avec plus d'affinité que les lipopolysaccharides qui sont responsables de la biosynthèse de la paroi du peptidoglycane, essentielle au maintien de l'intégrité de la membrane cellulaire en la protégeant des variations de pression osmotique (VAN BAMBEKE et TULKENS, 2008).

Efflux actif de l'antibiotique

L'efflux repose sur une pompe insérée dans la membrane interne et capable d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce à un canal présent dans la membrane externe et grâce à une protéine de jonction périplasmique. Cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique et confère généralement des résistances à bas niveau. Ils s'exercent vis-à-vis de nombreux antibiotiques dont la cible d'action est intracellulaire (quinolones, chloramphénicol, macrolides, tétracyclines...) (SOUMAILA GARBA, 2012).

4.4.2. Mécanismes Génétiques

Supports génétiques de la résistance

- **Chromosomes**

Comme tous les procaryotes, les bactéries possèdent un appareil nucléaire constitué d'acide désoxyribonucléique (ADN) qui est le support de l'information génétique. Les constituants de l'appareil nucléaire sont la cible d'action de plusieurs antibiotiques : Les quinolones inhibent les topoisomérases et les rifamycines inhibent les ARN polymérases, tandis que les nitromidazolés entraînent la fragmentation de l'ADN chez les anaérobies stricts (SOUMAILA GARBA, 2012).

- **Plasmides**

Les plasmides sont définis comme étant des structures d'ADN double brin, circulaire et autonome du chromosome bactérien par rapport à leur contrôle et leur réplication. Ils peuvent être transférés horizontalement par conjugaison ou mobilisation, entre bactéries de même

espèce ou non. Ce sont les éléments du génome les plus mobiles. Le plasmide peut véhiculer la résistance à plusieurs antibiotiques à la fois (KERN-BERNAIBOUT, 2006).

- **Transposon**

C'est un gène mobile, appelé gène « sautant », codant pour une résistance aux antibiotiques et qui possède des séquences d'insertion et la capacité de se transférer d'un plasmide vers le chromosome, d'un chromosome vers un autre chromosome ou d'un plasmide vers un autre plasmide. Il peut véhiculer plusieurs gènes de résistance. Il ne peut pas se répliquer mais code pour des éléments de transposition. La transposition étant un phénomène qui consiste à additionner des gènes de taille définie au sein du chromosome bactérien ou du plasmide (SOUMAILA GARBA, 2012).

- **Intégrons**

Systèmes d'éléments génétiques capables d'acquérir ou de perdre des gènes. Ils ne se répliquent pas mais constituent un système de capture et d'expression de gènes sous forme de cassettes. Les cassettes sont des éléments mobiles capables d'être intégrés ou excisés par un mécanisme de recombinaison spécifique de site. Les intégrons sont véhiculés par un chromosome, un plasmide, ou un élément transposable (SOUMAILA GARBA, 2012).

*Chapitre V : Facteurs de
virulence*

5. Facteur de virulence

5.1. Introduction

Escherichia coli a été différencié en plusieurs sérotypes différents, dont plusieurs ont la capacité de produire une maladie en raison de leur potentiel pathogène. Plusieurs méthodes de détection de la virulence permettent de discriminer les sérovars d'*E.coli* pathogènes et non pathogènes, qui comprennent des procédures de contrôle de culture phénotypique classiques et des techniques moléculaires (EFSA, 2014 , CDC, 2015).

5.2. Définitions

5.2.1. La virulence

La virulence est définie comme étant l'intensité de la maladie causée par un organisme. Il est de plus en plus évident que la virulence est très complexe et dépend de l'interaction entre l'hôte et le micro-organisme (LOVE et JONES, 2008).

5.2.2. Facteurs de virulence

Un certain nombre de facteurs de virulence ont été étudiés chez les APEC. Ces facteurs de virulence regroupent les adhésines (fimbriaires ou afimbriaires) 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 comme l'hémolysine et la cytotoxine nécrosante dont l'effet est de favoriser le franchissement de la barrière épithéliale par les colibacilles ; l'hémagglutinine sensible à la température (Tsh) et enfin la fixation du rouge Congo au polysaccharide capsulaire (MAINIL, 2003 ; MELLATA, 2003 ; DZIVA et STEVENAS, 2008 ; ROBINEAU et MOALIC, 2010).

5.3. Résistance au sérum.

La résistance bactérienne au complément, médiée par les structures de surface bactériennes telles que le LPS, la capsule, la colicine Col V et les protéines de la membrane externe, a été associée aux souches APEC (Gross 1991, Fantinatti et al. 1994, Ngeleka *et al.*, 1996, Lynne *et al.*, 2007).

5.4. La fixation du rouge Congo

La capacité de liaison du rouge Congo en milieu gélose a été observée parmi les souches de l'APEC. Certains auteurs ont proposé l'utilisation de cette caractéristique comme marqueur de virulence pour les souches APEC (Berkhoff & Vinal 1986, Corbett *et al.*, 1987).

5.4.1. Le colorant rouge Congo

Le rouge Congo, appelé aussi acide benzidinediazo-bis-1-naphtylamine-4-sulphonique est une molécule diazoïque, c'est-à-dire qui possède deux fois la structure de l'azobenzène. Le rouge Congo est à la fois un colorant organique, plus trop utilisé de fait de sa toxicité, et un indicateur de pH, c'est-à-dire d'indicateur de l'acidité d'un milieu sous sa forme basique, le rouge Congo est rouge. Quand le pH est compris entre 3.0 et 5.2, il devient rose. En présence d'une acidité supérieure, l'indicateur devient bleu. Le rouge Congo est très répandu également en histologie, c'est-à-dire l'étude des tissus biologiques, et en mycologie, c'est-à-dire l'étude des champignons (DIDIER BAAR et MARCEL LECOMTE, 2011).

5.4.2. Nature du réactif :

Le rouge Congo est un colorant qui fait partie de la catégorie des polyazoïques parce qu'il possède deux chromophores (région de la molécule qui est principalement responsable de la teinte) de type azoïque, c'est-à-dire formés chacun de deux atomes d'azote doublement liés, et diversement substitués. C'est un colorant acide, c'est-à-dire qu'il a tendance à se fixer préférentiellement sur les structures basiques. Il colore particulièrement bien les parois des cellules de champignons ; c'est pour cela qu'il est un des colorants les plus utilisés en mycologie générale. (DIDIER BAAR et MARCEL LECOMTE, 2011).

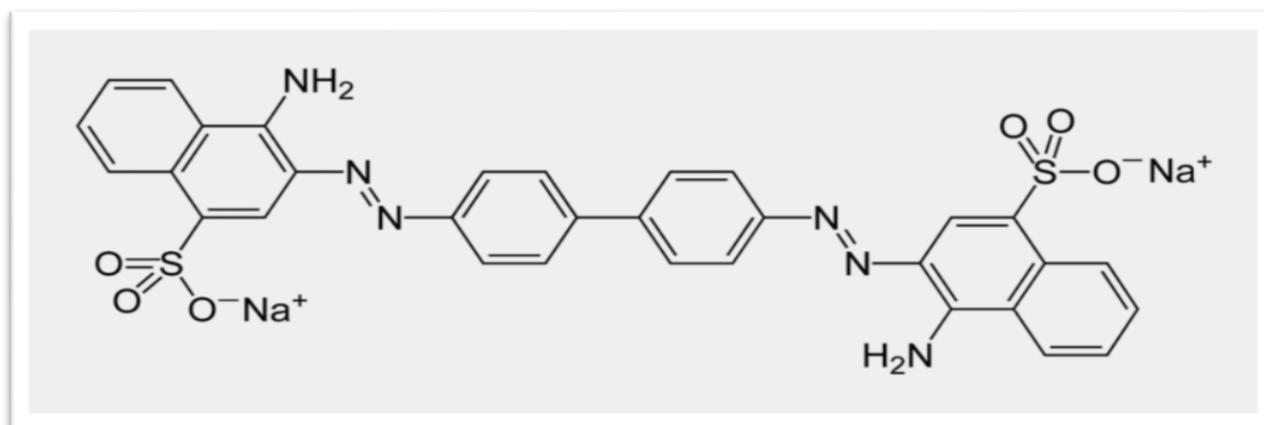


Figure 3 : Structure du rouge Congo

Apparence poudre rouge foncé

Formule brute C₃₂H₂₂N₆Na₂O₆S₂ (Isomères)

T° fusion >360 °C

*Deuxième partie : Etude
expérimentale*

Matériels et méthodes

Objectif

Cette étude a pour objectif de caractériser les souches impliquées dans la colibacillose aviaire en déterminant leur profil d'antibiorésistance et leur virulence potentielle par le test de la fixation du Rouge Congo et la résistance au sérum.

Notre travail a été effectué au niveau de laboratoire régional vétérinaire de Draa Ben Kheda (Wilaya de Tizi-Ouzou). Notre étude a portée sur 150 prélèvements d'organes internes aviaires issues de poulet de chair, poules pondeuses, poules reproductrices, poussins, de dindes et de contre expertises des organes cités. Ces organes de sujets malades sont issus de différentes régions du centre Algérien : Tizi-Ouzou, Béjaïa, Bordj-Bo-Arreridj, Bouira, Alger, Msila et Boumerdès.

1. Matériels

1.1. Matériels biologiques

1.1.1. Souches testées : Cinquante (50) isolats issus d'organes internes aviaires ont fait l'objet de notre étude.

1.1.2. Souche de référence

La souche de référence utilisée est : *E. coli* ATCC 25922 pour le contrôle de qualité de l'antibiogramme et témoin négatif de la résistance au sérum.

1.1.3. Echantillons d'organes

Les échantillons d'organes sont parvenus au service bactériologique dans des boîtes de Pétri aussitôt après le rapport d'autopsie effectué au niveau du service « Pathologie ». Ils arrivent d'une manière irrégulière dans le temps.

1.2. Matériels du laboratoire

1.2.1. Appareillage et verrerie

- Bec bunsen ;
- Agitateur à tube ;
- Etuve à 37°C et 42°C ;
- Densitomètre ;
- Boîtes de pétri stériles ;

- Ecouvillons stériles ;
- Anse pasteur (à boucle et à fil droit) ;
- Tubes à vis stériles ;
- Pied à coulisse électronique ;
- Lames et lamelles ;
- Microscope optique ;
- Tubes de conservations des souches (Cryotubes) ;
- Portoirs ;

1.2.2. Milieux de culture :

- Milieu d'enrichissement (rappaport vassiliadis)
- Gélose Hécktoen; Gélose Mueller Hinton;
- Additif Hécktoen;
- Bouillon cœur-cerveau(BHIB) ;
- Disques d'antibiotiques (Bio-Rad), utilisés sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IV : les disques d'antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme

Famille	Antibiotiques	Abréviation	Charge des disques µg
Bêtalactamines	Ampicilline	AMP	10µg
	Amoxicilline	AMX	25 µg
	Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC	30 µg
	Céfalotine	CEF	30 µg
	Céftazidime	CAZ	30 µg
	Céftiofur	XNL	
	Imipénème	IPM	30 µg
	Aminosides	Gentamicine	GEN
Kanamycine		KAN	
Neomycine		NEO	10 µg
Cyclines	Tétracycline	TET	30 µg
	Oxytétracycline	OT	30 µg
Phénicol Polypeptides	Chloramphénicol	CHL	30 µg
	Colistine	COL	30 µg
Sulfamides et associés	Triméthoprime +sulfaméthoxazole	SXT	10 µg
Quinolones	Acide nalidixiques	A.NAL	25 µg
	Enrofloxacin	ENR	30 µg
	Marbofloxacin	MAR	5µg
Nitrofurantoin	Nitrofurantoin	FTN	300 µg

1.2.3. Milieux et réactifs utilisés pour l'identification biochimique

- Mannitol mobilité ;
- TSI (Triple Sugar Iron) ;
- Urée-indole ;
- Disques de l'ONPG (ortho-nitro-phénol-β-D-galactopyranoside) ;
- Disques d'oxydase (OX) ;
- Réactif de Kovacs ;
- Eau oxygénée (H₂O₂) ;
- Eau distillée ;

1.2.4. Autres réactifs

- Glycérol pour la conservation ;
- Violet de gentiane ; Lugol ; la fuschine ; Alcool-acétone ; Rouge Congo.

2. Méthodes

2.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués sur le foie, le cœur, les vésicules et sacs vitellins qui proviennent de sujets vivants : Poulet de chair, poussin, dinde, pintades, poule reproductrice et pondeuse présentant des lésions caractéristiques des atteintes rencontrées lors des septicémies colibacillaires.



Figure 4 : Organes découpés

2.2. Isolement

-L'isolement et la purification des souches d'*Escherichia coli* issues d'organes aviaires atteints de colibacilloses a été réalisé sur gélose Hektoen par méthodes d'écouvillonnage, puis incubées à 37° pendant 18 à 24 h.

-Les cultures caractéristiques présentent un aspect de colonies saumon, rondes, bombées avec un petit point au centre à bords bien déterminés et un diamètre compris entre 2 à 4 mm.

2.3. Identification bactérienne

Une identification est obligatoire afin de déterminer que les souches bactériennes étudiées sont bien des *E. coli*. Celle-ci repose sur :

- **L'étude macroscopique** : observation de l'aspect, la forme, la couleur et l'odeur des colonies à partir d'une culture sur boites de Pétri (gélose hecktoen) à l'œil nu et grâce à la loupe binoculaire.
- **L'étude microscopique** : observation du frottis après coloration de Gram.

Coloration de Gram :

C'est une double coloration qui nous renseigne sur la morphologie, la pureté des cultures et permet de distinguer les bactéries à paroi Gram (+) des bactéries à paroi Gram (-).

Technique :

Préparation du frottis :

Sur une lame déposer une goutte d'eau distillée stérile ;

- Prélever une colonie à partir d'une culture pure à l'aide d'une anse à fil droit et disperser dans la goutte d'eau ;
- Bien l'étaler sur la lame afin de l'homogénéiser ;
- Procéder à un séchage en passant la lame au-dessus de la flamme par mouvements de vas et viens ;
- Fixer les cellules bactériennes par la chaleur.

Coloration :

- Recouvrir le frottis avec le premier colorant qui est le violet de gentiane pendant 1minute et rejeter sans rincer ;

- Ajouter le lugol, laisser agir 45 secondes puis rejeter ;
- Rajouter une deuxième fois le lugol, laisser agir 45 secondes et rejeter l'excès ;
- Rincer à l'eau courante, égoutter ;
- Incliner la lame, verser l'alcool et laisser agir 30 secondes ;
- Rincer immédiatement à l'eau pour enlever toute trace de l'alcool ;
- Recouvrir le frottis avec le deuxième colorant (la fuschine) pendant 1 minute puis rincer et sécher ;
- Observer au microscope optique à l'immersion au grossissement 1000.

-Lecture

Les bactéries colorées en rose sont des bactéries Gram (-) tandis que celles apparaissant en violet sont des bactéries Gram (+).

- **Etude biochimiques** : elle se base sur les tests biochimiques caractéristiques du métabolisme d'*E. coli*.
- **Tableau V** : Les principaux tests biochimiques discriminant l'identification d'*E. coli*.

Tests biochimiques	Le milieu	Ensemencement	Réactifs	Lecture
Test de l'urée-indole	Milieu Ferguson	Ensemencer le milieu avec la souche à tester puis incubé à 37 pendant 24H	Test de l'Uréase Test de l'indole après 24H ajout du réactif de kovacs	Uréase - : Le milieu reste orange Uréase + : Le milieu devient rouge Indole + : Formation d'un anneau rouge Indole - : Absence d'un anneau rouge
Test de catalase		Verser directement sur les colonies d' <i>E. coli</i> cultivées sur boîte de petri, quelques gouttes, d'eau oxygénée (H ₂ O ₂).	H ₂ O ₂	Catalase + : formation de bulles Catalase - : absence de bulles

Tableau V (suite) : Les principaux tests biochimiques discriminant l'identification d'*E. coli*.

Tests biochimiques	Le milieu	Ensemencement	Réactifs	Lecture
TSI (métabolisme glucidique)	TSI (triple Sugar Iron) milieu gélosé en pente	Ensemencement de la souche à tester avec une pique central dans le culot et des stries dans la pente		Culot jaune : dégradation du glucose Pente jaune : dégradation du lactose La zone intermédiaire jaune : Dégradation du saccharose
Test oxydase		Ensemencement de la souche à tester dans de l'eau physiologique Et rajouter un disque d'oxydase		Oxydase+ : apparition de couleur violet Oxydase - : pas d'apparition de couleur
Test de mobilité et dégradation du mannitol	Mannitol-Mobilité	Ensemencement de la souche à tester avec une pique central		Mannitol+ : milieu jaune Mannitol - : milieu reste rouge Mobilité+ : la souche pousse au tour pique central Mobilité - : la souche pousse uniquement dans la pique centrale
Test ONPG(orthro-nitro-phenyl-galactopyranose)	Eau physiologique	Ensemencement de la souche à tester dans 0,5 ml d'eau physiologique. Introduire le disque d'ONPG	Disque d'ONPG	ONPG+ : couleur jaune implique présence de béta-galactosidase ONPG - : solution incolore implique l'absence de l'enzyme

2.4. Etude de la résistance aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion des disques en milieu solide (Mueller Hinton) appelée antibiogramme, selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM-VET2013 ; CASFM-VET, 2017 ; CASFM-VET, 2018 et CASFM-VET, 2019).

2.4.1. Antibiogramme

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante. La gélose de Mueller Hinton est un milieu de base qui permet la réalisation de l'antibiogramme standard. Elle est coulée en boîtes de Pétri. La surface de la gélose est séchée pendant 15 minutes à 37° C.

Technique :

La gélose Muller Hinton est utilisée pour l'antibiogramme et coulée sur boîte de Pétri à une épaisseur de 4 mm. Les géloses sont séchées avant l'emploi.

Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement (hecktoen), prélever à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Les colonies prélevées sont ensuite suspendues dans 2 à 5ml d'eau physiologiques stérile ;
- Homogénéiser la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex. L'opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une densité optique de 0,08 à 0,1 lue à une longueur d'onde de 625 nm (Equivalente à 10^8 Cells / ml);

- L'ensemencement doit se faire après les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

Ensemencement : On a utilisé les deux méthodes :

- Pendant les températures acceptables du mois Avril à Juin (avec écouvillon) ;

- Pendant les canicules de Juillet à Aout avec inondation ;

• **A l'aide d'un écouvillon :**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;

- L'essorer sur la paroi du tube afin de diminuer la charge ;

- Ensemencement de la gélose sur la totalité de la boîte en faisant des stries serrées sans oublier de pivoter l'écouvillon sur lui-même, répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° C;

- A la fin, faire passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

• **Par inondation**

L'inondation de la surface entière de la gélose MH se fait en versant les 5ml de la suspension bactérienne ; après quelques minutes on rejette l'excès et les boîtes sont laissées séchées pendant 15 minutes à température ambiante.

- Application des disques d'antibiotiques

A l'aide d'une pince stérile, les disques d'antibiotiques sont placés sur la gélose MH à une distance de 2,5 à 3 cm entre les disques. Avant incubation, une phase de pré-diffusion des antibiotiques est nécessaire à une température ambiante.

-Incubation

Elle se fait à 37° C pendant 18 heures.

-Lecture

À l'aide d'un pied à coulisse, les différents diamètres des zones d'inhibition obtenues autour des disques d'antibiotiques ont été mesurés, comparés aux valeurs critiques. L'interprétation en bactérie Sensible (S) Intermédiaire (I) ou Résistante (R) a été effectuée

selon les critères définis par le CA-SFM ((Recommandations 2019 V.1.0 Janvier, 2018 et 2017). (Voir tableau10 annexe 2).

2.5. Contrôle de qualité

Objectif :

Le contrôle de qualité a pour but l'évaluation continue de la reproductibilité et de la fiabilité des résultats des tests de sensibilité, de la performance des réactifs et du personnel technique.

➤ Procédure :

Le contrôle de qualité doit se faire à chaque nouveau lot de Mueller-Hinton et ou d'antibiotiques, il a été effectué dans les mêmes conditions que les antibiogrammes, à l'aide de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922.

➤ Lecture :

La mesure des diamètres est effectuée à l'aide d'un pied à coulisse. Ils sont soigneusement pris et comparés aux valeurs critiques de la souche de référence (ATCC 25922); les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 11 (annexe 2).

2.6. Conservation des souches :

Les souches sont conservées dans des conditions qui maintiennent à la fois leurs vitalités et leurs caractéristiques.

Milieux utilisés :

- Bouillon cœur cerveau (BHIB) ;
- Glycérol.

Technique

- A partir de l'inoculum préparé pour l'antibiogramme, des petites boîtes de Pétri contenant la gélose MH sontensemencées et incubées à 37° C pendant 24H ;

- La culture pure de 24h est raclées à l'aide d'une anse à boucle ou à fil droit, puisensemencée dans le milieu BHIB sans incubation ;
- Le milieu est versé dans deux petits cryotubes (moitié/moitié) ;
- Ajouter la même quantité du glycérol que le BHIB (donc moitié glycérol et moitié BHIB) ;
- Conserver à une température de -20° C à -80° C.

2.7. Recherche des facteurs de virulence :

L'identification des facteurs de virulence est importante pour la pathogenèse bactérienne et dans notre cas le diagnostic des APEC (*Escherichia coli* aviaire pathogènes). Afin d'étudier la virulence des souches testées, deux tests ont été effectués : la fixation du rouge Congo et la résistance au sérum bovin.

2.7.1. La fixation du rouge Congo

Milieu utilisé

Le milieu utilisé est le Mueller-Hinton (MH) additionné de rouge Congo à raison de 0,02%.

Technique

A partir d'une culture de 24 h à 37° C des souches dans le milieu d'enrichissement (BHIB), un ensemencement des boîtes en stries serrées est effectué sur milieu Mueller-Hinton (MH) additionné de rouge Congo à raison de 0,02%. Les boîtes sont Incubées à 37° C pendant 24 h.

Lecture

Lorsqu'il ya développement des colonies rouge, on peut dire que la souche est fixatrice du colorant (rouge Congo) donc virulente. Les colonies blanches sont considérées avirulentes.

2.7.2. La résistance aux sérums

Ce test a consisté à déterminer si les souches testées d'*Escherichia coli* sont capables de résister au sérum bovin.

Milieu utilisé : Mueller Hinton (MH)

Technique

- Revivification des souches à tester dans le BHIB à 37°C pendant 24 H ;
- A partir de la culture, une dilution au 1/100 est ensuite effectuée.
- Prélever 100 µl à partir de cette dilution, puis les ensemercer par étalement sur milieu gélosé Mueller-Hinton ;
- Incubation à 37° C pendant 15 minutes ;
- Prélever 50 µl de sérum bovin et le déposer au centre de la boîte ;
- L'Incubation est réalisée à 37° C pendant 24 H.

Lecture

Un développement au centre de la boîte correspond à la résistance des souches testées aux sérums bovins, tandis que l'absence de développement témoignera de la sensibilité.

*Troisième partie : Résultats et
discussion*

1. Résultats

1.1. Isolement

Sur les 150 prélèvements réalisés, une cinquantaine de souches ont répondu positivement aux critères d'identification de l'espèce *Escherichia coli*.

L'isolement de ces souches a été effectué sur gélose hektoen, milieu sélectif des bactéries à Gram négatif (entérobactéries) en particulier *Escherichia coli* ; les colonies apparaissant de couleur saumon avec un point au centre. Cette coloration est due à la fermentation du lactose (virage de la couleur du milieu du vert au saumon) qui est l'un des caractères distincts de l'identification d'*E.coli*.

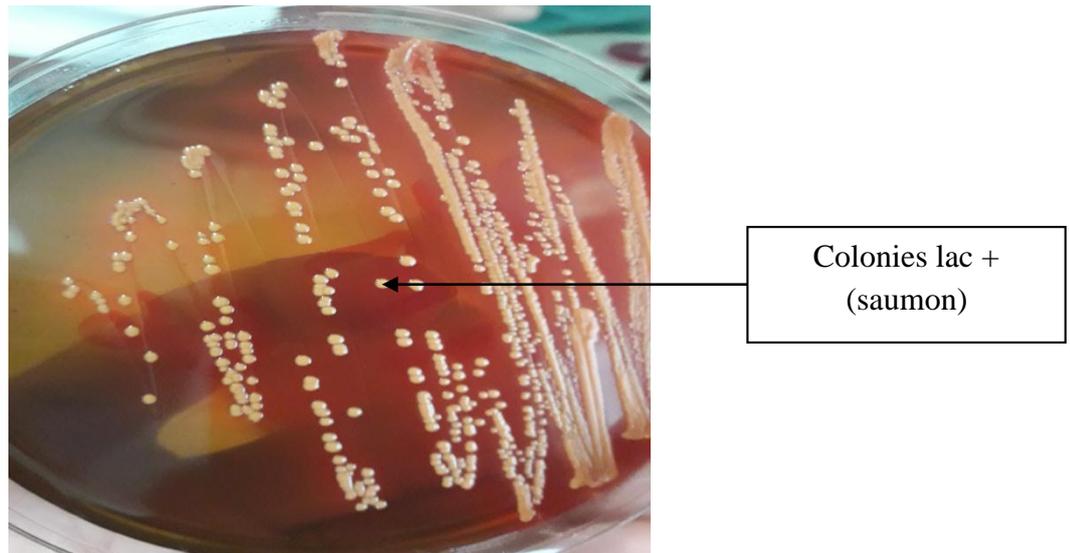


Figure 5 : Isolement d'*E.coli* sur milieu Hecktoen.

1.2. Identification

1.2.1. Etude macroscopique

Elle a reposé sur la détermination des caractéristiques propres à *E. coli* à savoir :

- **La forme :** colonies rondes à bords bien déterminés.
- **La couleur :** saumon.
- **Le diamètre :** entre 2 à 4 mm.
- **Odeur :** caractéristique de levure.
- **Élévation :** bombée.
- **Consistance :** humide et homogène.
- **Opacité :** colonies opaque.

1.2.2. Etude microscopique

Coloration de Gram

L'observation microscopique des souches testées au grossissement 1000. A fait apparaitre des bactéries en forme de coccobacille colorées en rose par la fuschine indiquant que ce sont des bactéries à Gram négatif.

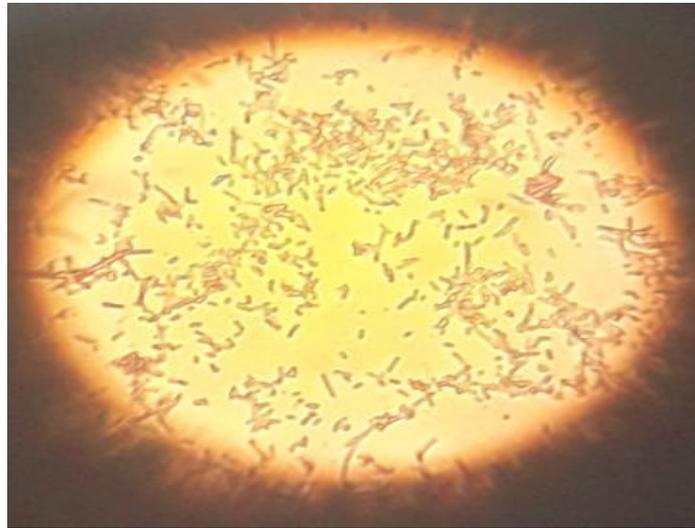


Figure 6 : *Escherichia coli* observée au microscope optique au grossissement(Gx100)

1.2.3. Résultats des tests biochimiques :

- **Test de l'urée-indole**

Le milieu urée-indole ou urée tryptophane est un milieu synthétique qui permet la recherche de :

- L'uréase, enzyme hydrolysant l'urée, une activité directement détectable par le suivi de l'alcalinisation (coloration rouge).
- La tryptophanase, après addition du réactif de Kovacs. Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge (anneau rouge).

E. coli est uréase négatif, ne possède pas l'enzyme uréase qui dégrade l'urée en ammoniacque et indole positif, qui implique la production de l'indole par dégradation du tryptophane. Ces tests discriminants sont importants pour l'identification d'*E.coli*.

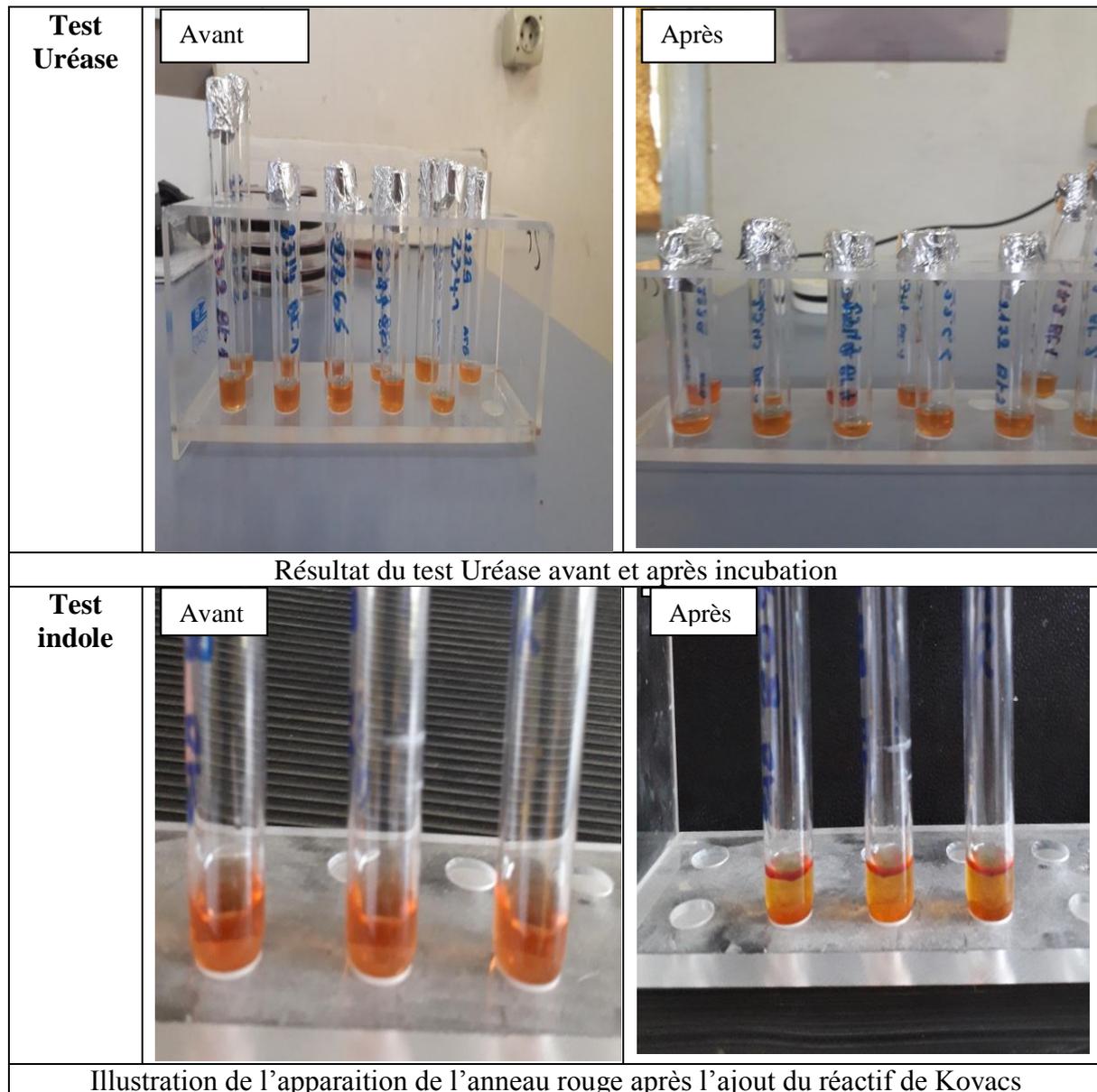
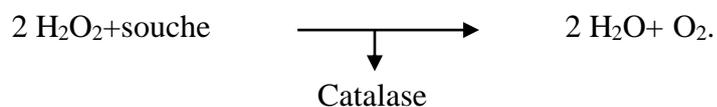


Figure 7: Résultat du test de l'urée-indole.

- **Test de la catalase**

Ce test a permis de déterminer si une bactérie synthétise l'enzyme appelée catalase.

E. coli est catalase positif donc possède cette enzyme qui dégrade l'eau oxygéné en oxygène +H₂O (eau).



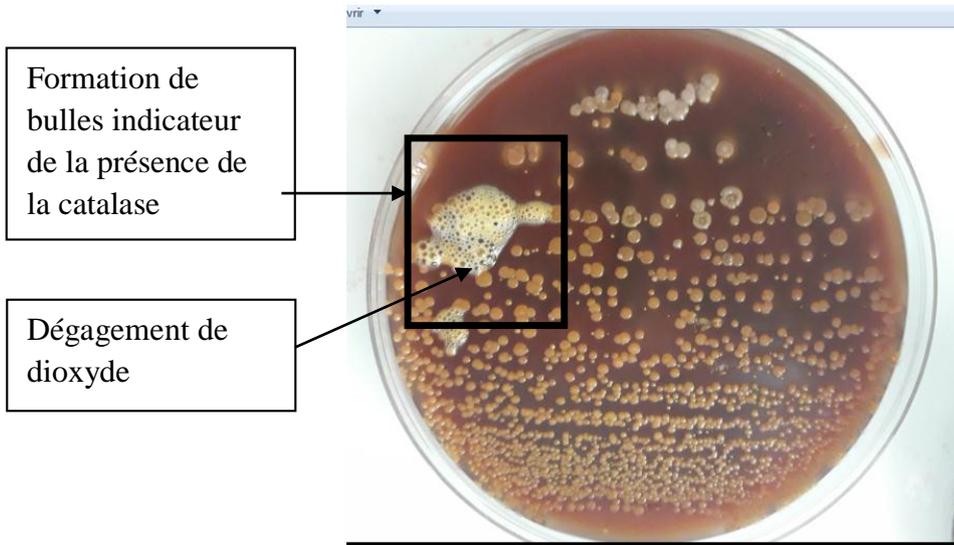


Figure 8 : Photos illustrant le résultat du test de la catalase.

- **Test de TSI (Triple Sugar Iron)**

C'est l'étude du métabolisme glucidique de trois sucres contenus dans la gélose en pente TSI ; le virage de la couleur du milieu au jaune indique la dégradation des sucres suivants : glucose, lactose et saccharose.

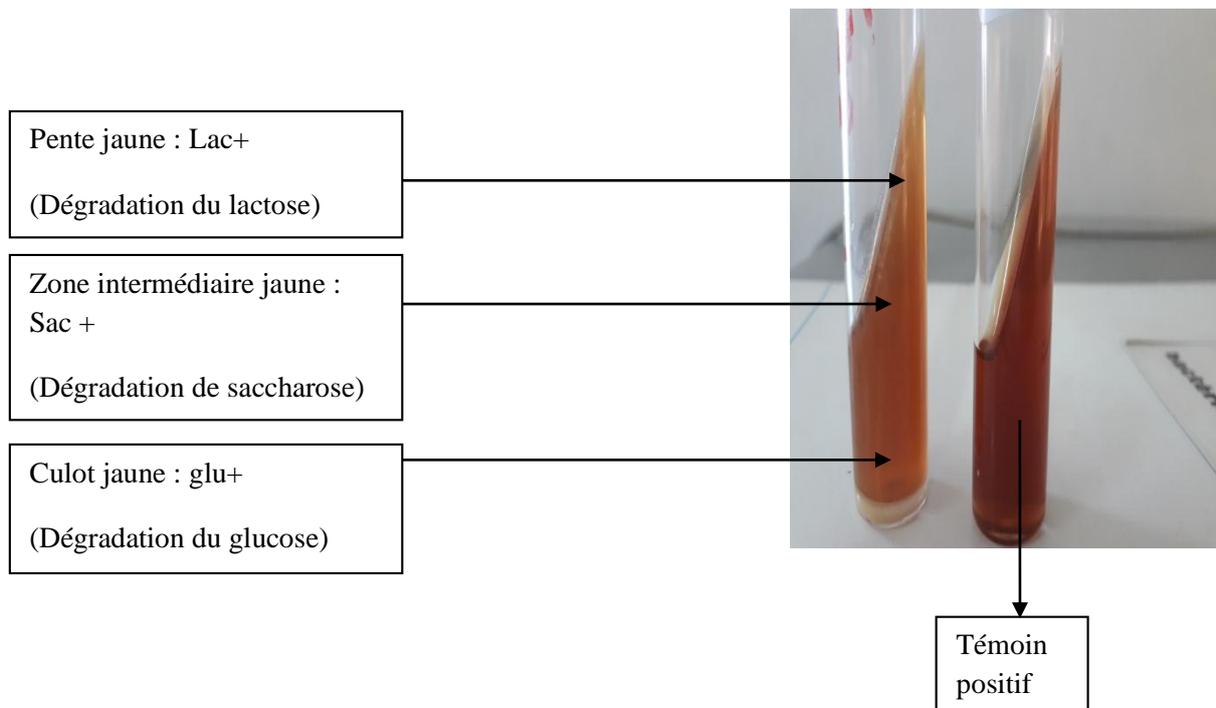
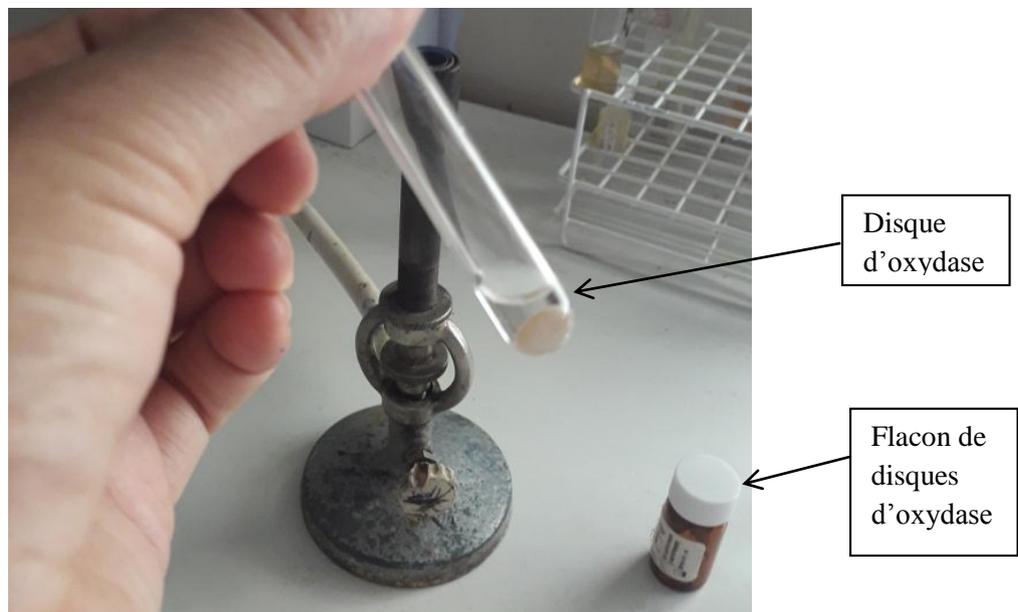


Figure 9 : Photo illustrant le résultat du test TSI (Triple Sugar Iron)

- **Test de l'oxydase**

L'oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires, la présence de cette enzyme se traduit par l'apparition d'une coloration violette après quelques secondes. *E. coli* oxydase négatif.

Avant



Après quelques secondes

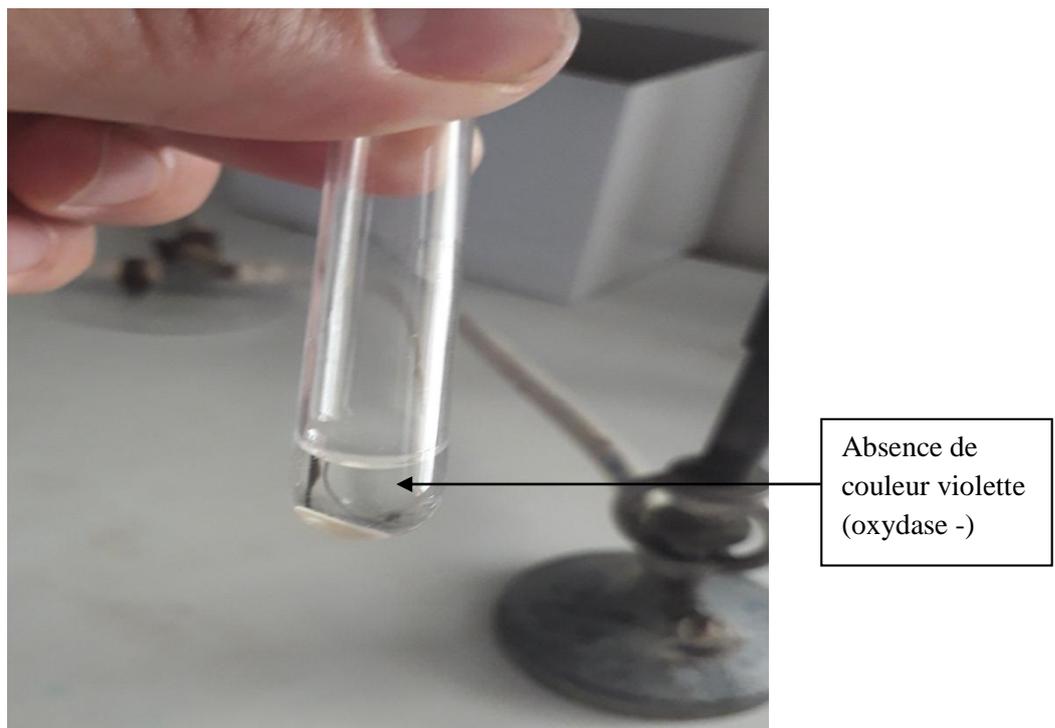


Figure 10 : Photos illustrant le test de l'oxydase.

- **Test de mannitol-mobilité**

Ce milieu a permis la recherche simultanément de la fermentation du mannitol et de la mobilité bactérienne. Les souches *E. coli* ont présenté une couleur du milieu est rouge, la dégradation du mannitol a induit une acidification du milieu qui se traduit par l'apparition de la couleur jaune. La mobilité de *E. coli* se traduit par l'apparition de développement autour de la pique centrale sous forme de nuage.

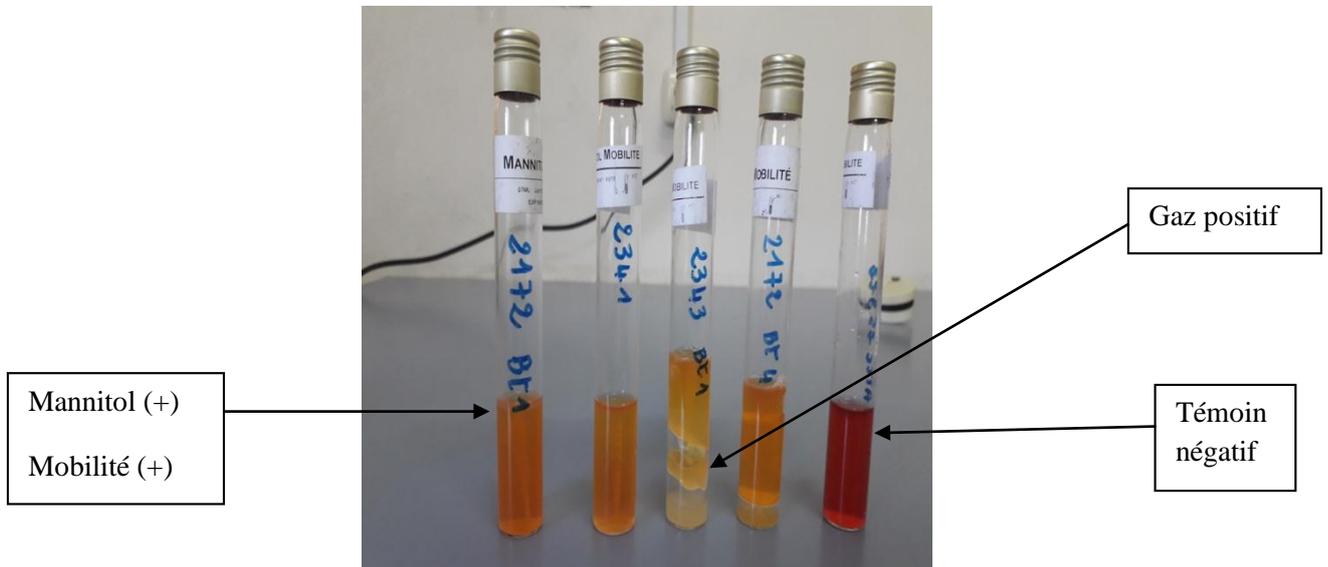


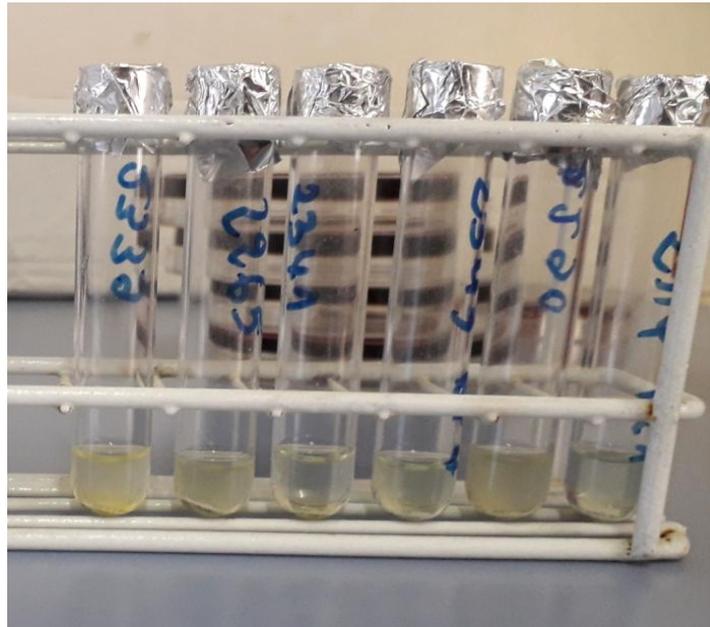
Figure11 : Résultat du test mannitol-mobilité.

- **Test ONPG (ortho-nitro-phenyl-galactopyranoside)**

Ce test qui permet de détecter directement la présence de β -galactosidase en fournissant à la bactérie un substrat de cette enzyme : L'orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside

E. coli est ONPG (+). L'apparition d'une couleur jaune est observée ; celle-ci étant due à la présence de l'enzyme qui dégrade le lactose.

Avant incubation



Après incubation



Figure 12 : Résultats du test ONPG

- Résultats des tests biochimiques réalisées pour les souches testées voir le tableau 8 (Annexe 2).

1.3. Résultats des antibiogrammes

Cinquante (50) isolats identifiés comme étant des souches d'*E.coli* ont fait l'objet d'un test de sensibilité à dix-huit (18) antibiotiques appartenant à différentes familles chimiques.

Sur l'ensemble des souches étudiées, les résultats de l'antibiogramme ont révélé une bonne activité des β -lactamines avec des taux élevés 90% pour le céftazidime, 90% pour le Céftiofur et 94 % pour l'imipénème ; un taux de 88% pour les Nitrofurantoines. Pour les autres antibiotiques, des différents taux de résistance ont été observés, ils varient de 6% à 58%.

Les taux de résistances les plus élevés ont été observées vis-à-vis de la tétracycline, de l'amoxicilline, de l'acide nalidixique, de l'enrofloxacin, de l'amoxicilline +acide clavulanique et de l'ampicilline avec respectivement 98%, 84%, 76%, 70%, 68%, 62%.

Un taux de résistance à l'imipénème et à la colistine a été détecté avec respectivement 6% et 20% L'ensemble des taux de résistance et de sensibilité aux antibiotiques est regroupé dans la figure (13). Les profils de sensibilité et résistance des souches testées sont résumés dans le tableau 9 dans l'annexe 2.

Tableau VI : Taux de résistance de souches d'*E.coli* aux 18 antibiotiques testés.

	Antibiotiques	Abréviations	Résistance (R+I) (%)	Sensibilité (%)
Bβtalactamines	Amoxicilline	AMX	42(84%)	8(16)
	Ampicilline	AMP	31(62)	19(38)
	Amoxicilline+acide clavulanique	AMC	34(68)	16(32)
	Imipenème	IMP	3(6)	47(94)
	Céftazidime	CAZ	5(10)	45(90)
	Céftiofur	XNL	5(10)	45(90)
	Céfaloine	CEF	22(44)	28(56)
	Triméthoprine + sulfaméthoxazole	SXT	27(54)	23(46)
	Tétracycline	TET	49(98)	1(2)
	Chloramphénicol	CHL	12(24)	38(76)
	Colistine	COL	10(20)	40(80)
Quinolones	Acide nalidixique	NAL	38(76)	12(24)
	Enrofloxacin	ENR	35(70)	15(30)
	Marbofloxacin	MAR	29(58)	21(42)
Aminosides	Kanamycine	KMN	20(40)	30(60)
	Gentamicine	GEN	4(8)	46(92)
	Néomycine	NEO	20(40)	30(60)
Furanes	Nitrofurantoin	FTN	6(12)	44(88)

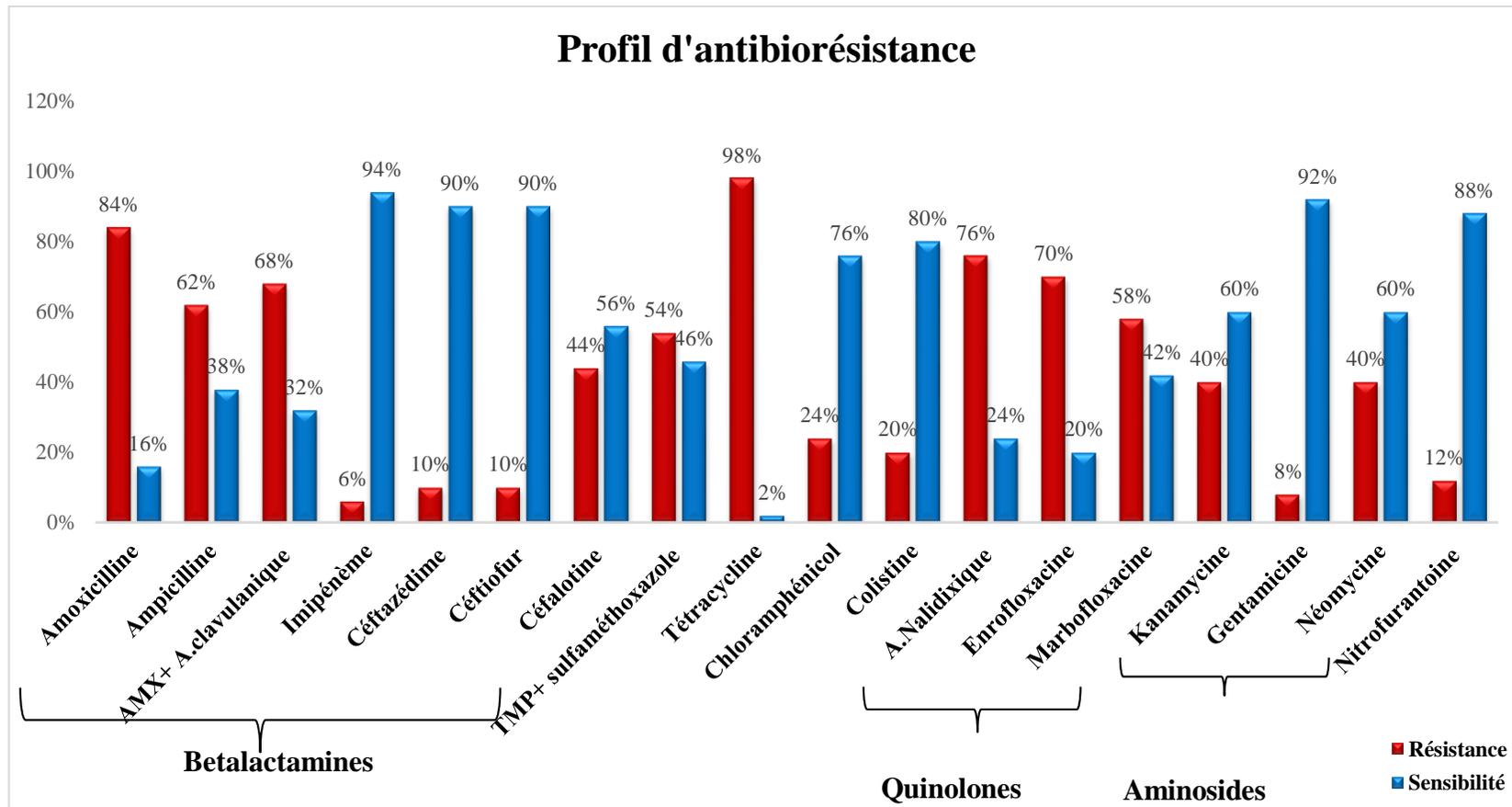


Figure 13 : Profils d'antibiorésistance des souches d'*E.coli* aviaires.

- Sur les 50 isolats on a obtenu une souche (souche n° 2523bt2) résistante à 100% pour la colistine

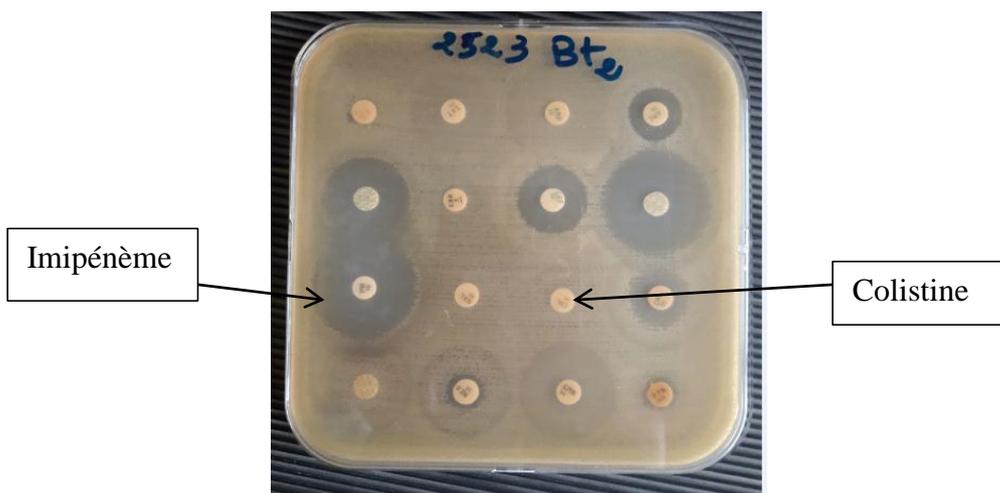


Figure 14 : Photos de la souche résistante à la colistine à 100%.

- **Répartition des souches testées selon le type de prélèvement.**

E. coli potentiellement pathogène est présent avec un taux plus élevé chez le poulet de chair, puis moyen chez la poule pondeuse, aussi avec des taux presque égaux concernant la poulette démarrée et les poussins et avec un taux faible chez la dinde mais pas sans risque.

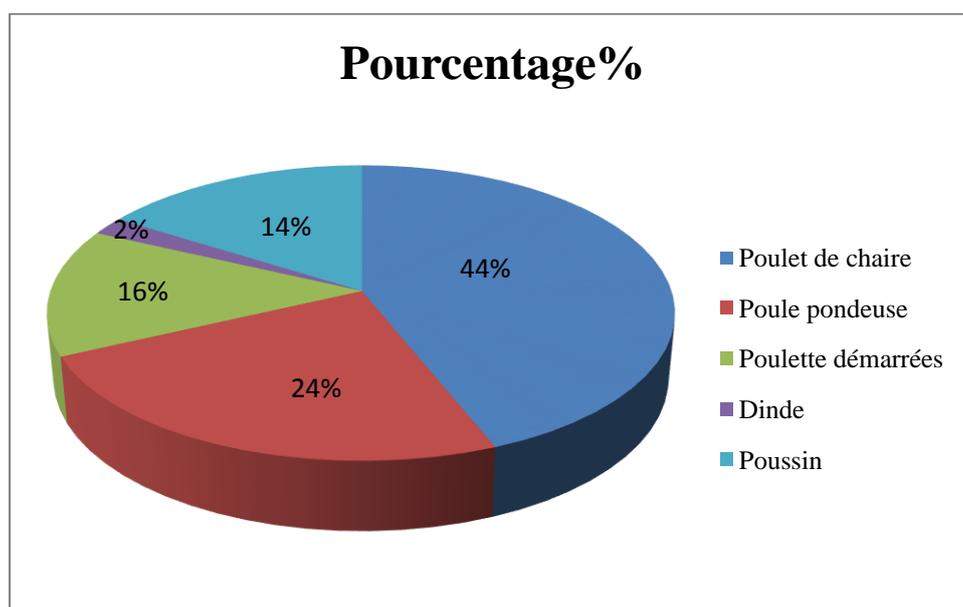


Figure 15 : Répartition des souches.

1.4. Résultats des tests de la recherche des facteurs de virulence

La majorité des souches d'*E.coli* sont fixatrices du rouge Congo avec un pourcentage de 64% alors que 32% sont non fixatrices (Les résultats sont résumés dans tableau12 annexe 2).

➤ Photos des résultats de la fixation du rouge Congo

Les boîtes avec des colonies rouges sont virulentes.

Les boîtes avec des colonies blanches sont avirulentes.

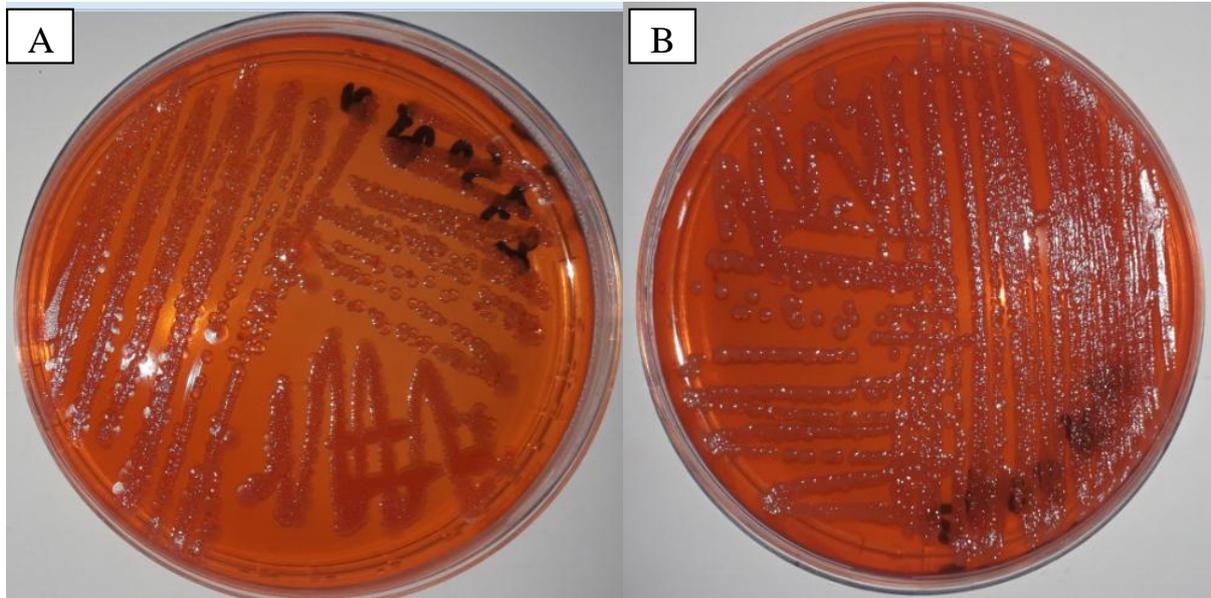


Figure16 : Les photos A et B colonies de *E. coli* fixatrice du rouge Congo
(Colonies rouges).

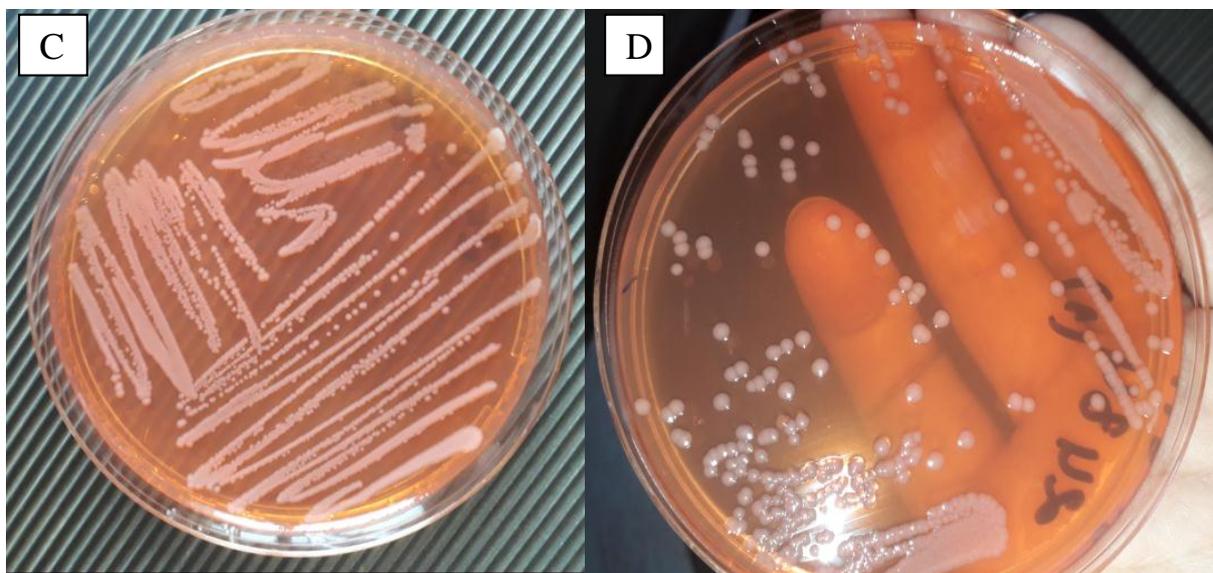


Figure 17 : C et D photos illustrant les colonies d'*E.coli* non fixatrice du rouge Congo
(Colonies blanche).

- Pourcentage des souches virulentes (fixatrice du rouge Congo) et avirulentes.

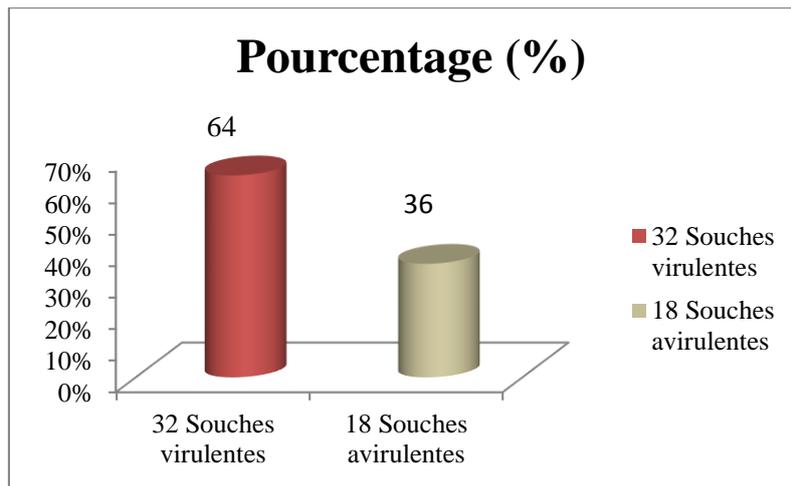


Figure18 : Résultats des facteurs de virulences (RC).

- **Photos des résultats de la résistance aux sérums bovins**

La totalité des souches aviaires isolées issues de lésions de colibacillose, se sont avérées résistantes au sérum (100%). Les résultats sont résumés dans tableau 12 annexe 2).

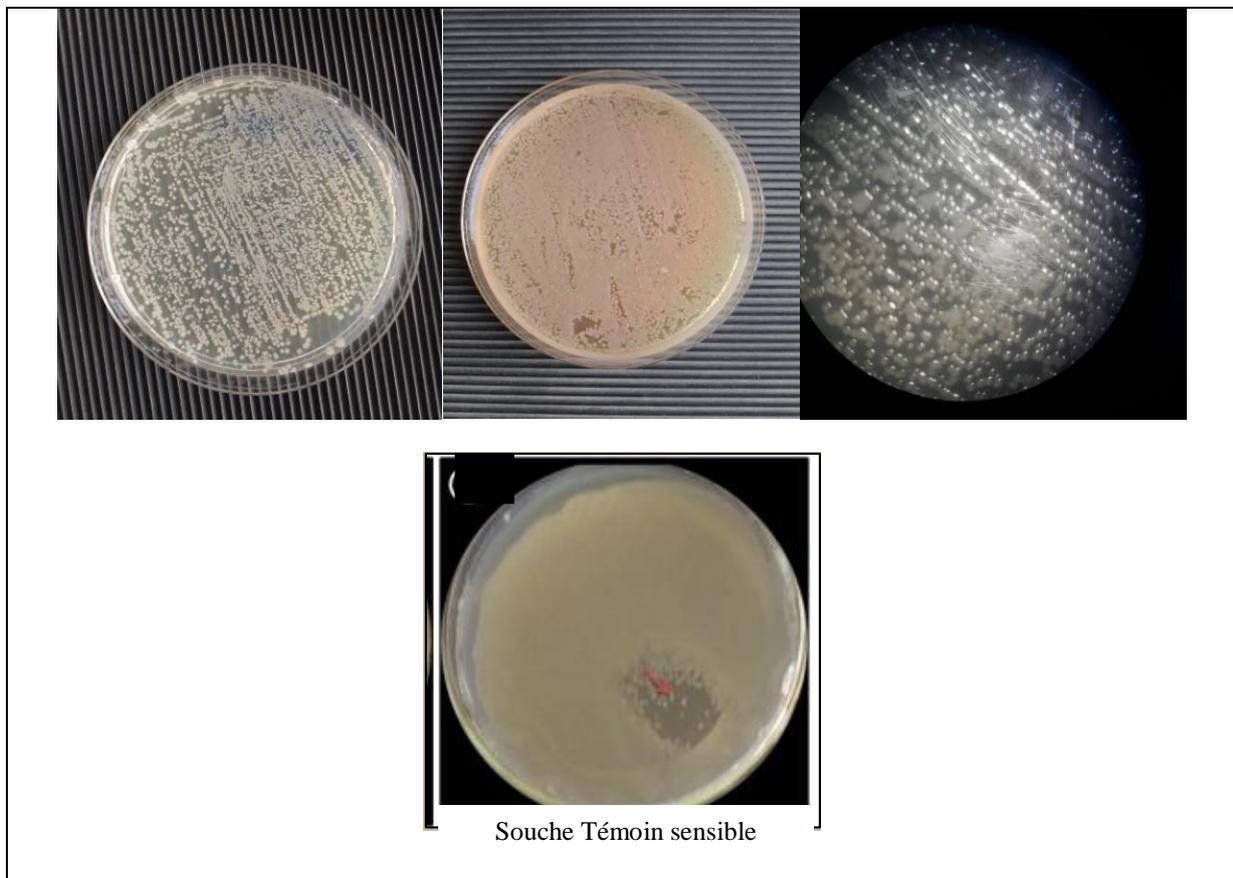


Figure19 : Résultats de la résistance au sérum bovin

2. Discussion

Les *Escherichia coli* aviaires, bien que considérés par beaucoup comme pathogènes secondaires, représentent à l'heure actuelle l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur avicole.

L'antibiothérapie basée sur un diagnostic adéquat ainsi que la prophylaxie, restent encore les seuls moyens de lutte contre la colibacillose, malgré l'incidence croissante des résistances et le risque accru de transfert à l'homme. Un certain nombre de facteurs de virulence ont été étudiés et associés aux *Escherichia coli* aviaires.

Les résultats ont montré que nos souches étaient Gram négatif et oxydase négative, ce qui indique probablement que ce sont des entérobactéries.

L'identification biochimique a révélé que nos souches d'*E.coli* ont présenté le même profil : mobiles, catalase+, uréase-, sont ONPG+, H₂S-, indole+, mannitol+, Ce profil est semblable à celui de la souche de référence (BioMérieux) *E. coli* ATCC 25922 ce qui confirme que nos souches sont bien des *E. coli*.

Pour les températures d'incubation, la température de 42°C a permis d'avoir un bon rendement par rapport à celle de 37°C, probablement à cause de la thermo-tolérance connue d'*E.coli* à cette température.

L'étude des profils d'antibio-résistance de 50 souches d'*E.coli* d'origine aviaire potentiellement pathogènes, indique que l'ensemble des souches testées se sont révélées résistantes à la tétracycline avec un taux très élevé de (98%), ceci concorde avec les taux de résistance (96,6%) enregistrés lors de l'étude de LAAREM *et al.*, (2017), alors qu'en 2016, MEGUENNI a obtenu un taux moyen de 28,4% dans son étude sur des souches de la région Centre Algérien. Nous expliquons cette grande résistance du fait que les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées en thérapie engendrant une résistance très élevée.

Les taux de résistance enregistrés pour les β - lactamines ont montré des niveaux élevés pour l'amoxicilline et l'ampicilline avec des taux de (84%) et (62%) respectivement. Des résultats presque similaires ont été obtenus au niveau du centre Algérien et de l'Est Algérien par MEGUENNI (2016), avec 60,1% de résistance à l'amoxicilline, 60,2% de résistance à l'ampicilline et par LAAREM *et al.*, (2017) avec 65,5% de résistance à l'amoxicilline.

Des niveaux de résistance plus élevés, 84,5% et 87,8% pour l'amoxicilline et l'ampicilline respectivement, ont été signalés par MESSAÏ *et al.* (2013) dans l'Est Algérien, à Sétif. Par contre la résistance observée pour l'ampicilline et amoxicilline enregistrés par HAMMOUDI (2009) est moyenne (47%). Au Sénégal, SOUMAILA GARBA (2012) n'a enregistrée aucune résistance (0%). Le niveau élevé de la résistance est peut-être dû à l'utilisation simultanée et abusive de ces molécules dans le secteur avicole.

Dans cette étude il a été enregistré un taux de soixante-huit (68%) pour l'association amoxicilline + acide clavulanique, cette fréquence est plus élevée que celle enregistrés par MEGUENNI en 2016 avec (27%).

Pour la résistance aux quinolones on a obtenu des taux élevés de l'ordre de (74%) et (70%) respectivement pour l'acide nalidixique et l'enrofloxacin. Alors qu'AMAIRI *et al.* (2018) ont signalé un taux moyen de (45%) pour l'enrofloxacin à l'encontre de HAMMOUDI en 2009 qui a rapporté un faible taux de résistance de 6%. Les quinolones constituent actuellement le plus important des groupes d'antibiotiques.

Selon MEGUENNI en 2016 le taux de résistance à l'acide nalidixique (55,2%) qui se rapproche du résultat établi par SOUMAILA GARBA en 2012 avec (48%) au Sénégal. L'Acide nalidixique, molécule absente dans la gamme des antibiotiques destinés aux animaux de production (CASFM, 2017).

Pour les aminosides, les résultats ont montré que la gentamicine est active sur la majorité des souches testés d'*E.coli*, avec une faible résistance obtenue à 8%, par contre la Kanamycine est moins active avec un taux assez élevé de 40%. Le taux de résistance à la gentamicine obtenu dans l'Ouest Algérien (AGGAD *et al.*, 2010) et dans la région de Sétif (MESSAI *et al.*, 2013) ont été aussi faible de 3%, 5,5% respectivement.

En Asie la résistance aux aminosides était plus élevée, des taux de 44,7%, 61%, 51% ont été observés vis-à-vis de la gentamicine, au Vietnam (USUI *et al.*, 2014) et en chine (ZHANG *et al.*, 2012a ; SAN *et al.*, 2012) respectivement.

Nos résultats pour la colistine de la famille des polymexines E. Elle est obtenue avec un taux de résistance moyennement élevé sur les *E. coli* aviaire de 20%. Contrairement au taux obtenu par MEGUENNI en 2016 de 0,68% dans le centre Algérien.

MASSAI *et al.* (2013) ont enregistré des taux de résistance à la colistine ne dépassant pas 3% à 5,5%. Par contre MOHAMMEDI *et al.* (2014) en Egypte avait signalé un taux élevé de 56%.

La colistine est récemment réintroduite dans le circuit thérapeutique pour le traitement des bactéries à gram négatif résistante aux carbapénèmes et a acquis un statut d'antibiotique de dernier recours dans de nombreux pays (KEMPF *et al.*, 2015 ; QUESADA *et al.*, 2015).

Au Maroc l'étude de HAFED *et al.* (2016) a révélé un taux de résistance plus alarmant de (87,41%) vis-à-vis de la colistine et SUBEDI *et al.* (2018) qui ont enregistré un taux de 50% au Népal.

La colistine classée comme antibiotique d'importance critique à priorité majeure pour la médecine humaine par l'OMS en 2017 à cause de sa toxicité rénale. De ce fait, l'utilisation en médecine vétérinaire de cette molécule est soumise à une forte pression.

Pour les carbapénèmes notamment l'imipénème, reste une molécule active sur presque l'ensemble des souches testées, sur *E. coli* aviaire, on a obtenu un taux de résistance faible de 6%. A l'encontre de MEGUENNI en 2016 qui n'a enregistré aucune résistance sur tous les isolats.

En ce qui concerne le taux enregistré pour la kanamycine et la néomycine est le même pour toutes les souches avec 40%. En revanche le taux signalé par SOUMAILA GARBA en 2012 faible est de 7% au Sénégal. Un taux de résistance moyen vis-à-vis de la kanamycine a été enregistré par MEGUENNI (2016) avec 17,6%.

Il est important de noter qu'en Asie un taux alarmant a été signalé en particulier en Chine par LI *et al.*, (2015), pour la kanamycine (95,4%).

Dans notre présente étude, pour la famille des β -lactamines notamment le céftiofur, céftazidime on a obtenu un taux similaire et faible pour les deux antibiotiques de 10%, et pour le céfalotine avec un taux moyen de 44%. Des taux de résistances faibles ont été enregistrés pour le céftiofur par SOUMAILA GARBA en 2012 avec 3% et par MEGUENNI en 2016 avec (9,2%) pour le céftazidime.

A travers le monde, des taux de résistance nettement plus élevés ont été observés pour les céphalosporines de 1^{ère} et 3^{ème} génération, avec 60% pour la céfalotine au Maroc dans les études de HAFED *et al.*, (2016).

La fréquence de résistance à l'association triméthoprime+sulfaméthoxazole est de l'ordre de 54% qui n'est pas loin des résultats obtenus par MEGUENNI en 2016 avec 41.9%, et par HAMMOUDI en 2008 avec 42%. Cette molécule est avérée moyennement active. En effet au Sénégal, SOUMAILA GARBA en 2012 a rapporté un niveau de résistance très élevé à l'association triméthoprime+ sulfaméthoxazole pouvant atteindre les 65%.

Toutefois, dans notre étude on a enregistré un taux de 24% pour le chloramphénicol qui est presque semblable aux résultats établie par SOUMAILA GARBA en 2012 avec 22%. Un taux de résistance modéré est enregistré pour Chloramphénicol (43,33%) rapporté par AMAIRI *et al.* (2018).

Les pourcentages de résistance aux furanes notamment les nitrofurantoines observées dans notre étude sont de 12% faible par rapport au taux signalé par SUBEDI *et al.* (2018) qui de l'ordre de 55%. Et enfin nos résultats pour le marbofloxacin ont montré un taux moyennement élevé de 58%.

Notre étude sur la recherche phénotypique des facteurs de virulence a permis de révéler que nos souches testées sont potentiellement virulentes, cela est du fait que la totalité de nos isolats sont avérés résistante au sérum bovin. De plus la majorité parmi elles, ont une grande aptitude à fixer le rouge Congo, on a obtenu un taux de (64%). En effet, selon JOHNSON *et al.*, (2008), les souches APEC sont caractérisées par la présence d'un assortiment de gènes de virulence dont le gène *iss* responsable de la résistance au sérum (increase serum survival). Pour la fixation du rouge Congo des résultats similaires ont été également rapportés par DUBEY *et al.*, (2000) et RAJI *et al.*, (2003).

Conclusion

Conclusion

Le problème des antibiotiques chez les souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire est d'une importance particulière en Algérie, car il existe un risque élevé de contamination humaine en raison d'une multitude de causes dont l'abattage manuel d'animaux.

La colibacillose aviaire est une infection bactériologique très courante contre laquelle les professionnels de la filière luttent par l'administration d'antibiotique. Outil thérapeutique particulièrement efficace, son utilisation, et notamment certaines modalités d'usage, favorise cependant l'antibiorésistance. La récurrence des traitements antibiotiques contre *E. coli* a donc conduit à l'augmentation des résistances au sein de cette famille bactérienne.

Cette étude a consisté à évaluer la résistance aux antibiotiques des cinquante (50) isolats issue majoritairement des lésions colibacillaires des régions du centre algérien et de déterminer les facteurs de virulence associés aux APEC (*E. coli* pathogène aviaire)

La quasi-totalité des isolats testés sont résistants aux β -lactamines, quinolones et les tétracyclines. Cette forte résistance pour ces trois familles, les rend inefficaces dans la lutte contre la colibacillose.

Les résultats de ce travail ont montré des taux élevés de résistance d'*E. coli* vis-à-vis de plusieurs antibactériens, avec une tendance à l'augmentation pour les molécules suivantes : Tétracycline, amoxicilline, l'acide nalidixique, enrofloxacin, l'amoxicilline+acide clavulanique, l'ampicilline, marbofloxacin et triméthoprime+sulfaméthoxazole avec 98%, 84%, 76%, 70%, 68%, 62%, 58%, 54% respectivement.

L'utilisation abusive et non contrôlée de ces antibiotiques pour la prévention et le traitement des maladies aviaires serait la principale cause de sélection de souches d'*E.coli* résistantes.

Il faut noter que le taux de résistance faible pour l'imipénème (6%) et moyennement élevé pour colistine 20%, implique que ces deux molécules sont actives sur les souches testées mais incite à une vigilance accrue vu leur statut de molécules de dernier recours.

La recherche des facteurs de virulences des *E. coli* pathogènes aviaires, a permis de révéler que les souches testées sont potentiellement virulentes au regard de la résistance de la totalité des isolats vis-à-vis du sérum et leur aptitude à la fixation du rouge Congo pour une majorité des isolats (64%).

Les résultats de notre étude nous donnent un aperçu sur les niveaux élevés de résistance d'*E.coli* d'origine aviaire en vers les différentes classes d'antibiotiques. En effet, de plus qu'elle peut être la cause d'échecs thérapeutiques en médecine vétérinaire, elle peut également

poser un problème de santé publique, celui de la capacité de transférer cette résistance aux humains.

Il serait vivement recommandé de limiter l'utilisation des antibiotiques surtout dans le cas de promoteurs de croissance, en raison du risque de résidus entrant dans la chaîne alimentaire et du potentiel d'évolution des souches résistantes.

Les recherches actuelles permettant de définir les facteurs de virulence communs au plus grand nombre de souches APEC, de les caractériser et de comprendre leurs mécanismes de fonctionnement, devraient permettre dans un avenir proche de définir des tests de diagnostic et d'améliorer la prophylaxie de cette maladie.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- AGGAD H., AMMAR Y. A., HAMMOUDI A. and KIHAL M. (2010).** Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Chickens with Colibacillosis. *Global Veterinaria* 4 (3): 303-306.
- AMARA A., ZIANI Z., BOUZOUBAA K. (1995).** Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. *Veterinary Microbiol.*, 43: 325-330.
- ANDRIOLE, V.T. (2000)** The Quinolones. *Elsevier Science* p 517.
- ANJUM A. D., SABRI M. A. and IQBAAL Z. (1989).** Hydro pericarditis syndrome in broiler chickens in Pakistan *Vet. Res.* 124, 247-248.
- AMAIRI T, YAHIA M, AZIZI A. (2018).** Résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des abattoirs et élevages de poulet de chair au nord-est d'Algérie *Courrier du Savoir – N°26*, Mars 2018, pp657-664.
- AVRIL J.L., DENIS F., DABERNAT H., MONTEIL H. (2000).** *Bacteriologie clinique*. 2^{ème} édition Marketing, paris. Pages 148-280.
- AVRIL JL, MONTEIL H, DOBERNAT H, DENIS F. (2006).** *Bacteriologie clinique*.
- BALL, P. (2000)** Quinolone generations: natural history or natural selection *J Antimicrob Chemother* 46:17-24.
- BERGEY'S MANUAL (2012).** WHITMAN, WB., GOODFELLOW, M., KAMPFER, P., BUSSE, H.-J., TRUJILLO, ME., LUDWIG, W., SUZUKI, K.-I., PARTE, A. (29 JANVIER 2012) [1984 (Williams & Wilkins)]. George M. Garrity (ed.). *Les Actinobactéries*. Manuel de bactériologie systématique de Bergey. 4 (2^e éd.). New York: Springer. p. 1750. [ISBN 978-0-387-95043-3](#). British Library no. GBA561951.
- BONNET, R. (2006)** B-lactamines et entérobactéries. In: Courvalin, P., Leclerck, R., Bingen, E. *Antibiogramme. Paris. ESKA : 2^{ème} édition* 15:141-62.
- BRUGERE-PICOUX J, BOUZOUAIA M, VAILLANCOURT J, SHIVAPRASAD H, VENNE D. (2015)** Manuel de Pathologie aviaire. Paris: AFAS, 701 pages, Edition AFAS, 2015.
- BRYAN, L.E., AND KWAN, S. (1983)** Roles of ribosomal binding, membrane potential, and electron transport in bacterial uptake of streptomycin and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* 23 :835-45.

BRYSKIER A., ACAR J., CLAUSER M. et MOREILLON PH (1999). Antibiotiques : agents antibactérien et antifongiques. Edition Ellipses. 1999 Paris

BRYSKIER, A. (1999) Antibiotiques Agents Antibactériens et Antifongiques. *Paris Ellipses* p: 55.

CAVALLO, J.D., FABRE, R., JEHL, F., RAPP, C., AND GARRABÉ, E. (2004) Bêtalactamines. *EMC-Mal Infect* 1: 129–202.

CHARDON H. et BRUGERE H. (2014). Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. Consulté en ligne : www.civ-viande.org

COURVALIN P. et LECLERCQ R. (2012). Antibiogramme. Edition Eska.

CASFM_VET2017. PDF, VET2018. PDF, VET2019.PDF. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

COHEN N, ENNAJI H, BOUHRIF B, HASSAR M, KARIB H (2007) Comparative Study of Microbiological Quality of Raw Poultry Meat at Various Seasons and for Different Slaughtering Processes in Casablanca (Morocco) *The Journal of Applied Poultry Research* 16: 50-508.

D.MOHAMMEDI (2016). Classification et mode d'action des antibiotiques,

DOI, Y., AND ARAKAWA, Y. (2007) 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 45:88-94.

DRLICA, K., AND ZHAO, X. (1997) DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *MicrobiolMolBiol Rev* **61**: 377-92.

DRLICA, K., MALIK, M., KERNS, R.J., AND ZHAO, X. (2008) Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrob Agents Chemother***52**: 385-92.

DURANTE-MANGONI, E., GRAMMATIKOS, A., UTILI, R., AND FALAGAS, M.E. (2009) Do we still need the aminoglycosides? *Int J Antimicrob Agents* **33**: 201-205.édition ELLIPSE.

DIDIER BAAR et MARCEL LECOMTE, (2011) Cercle Mycologique de /2011.www.rhodia.com/en/sustainability/global_product_strategy/index.tcm.

EDLER L. (2001). The Role of the biostatistician. Introduction to the clinical Drug

Research. Vienna School of Clinical Drug Research. 22-26. Page 15.

FERNANDEZ A., GASQUEZ A., MOSOS E. and JOVER A. 1986. Morphopathology of the adenohypophyse of chickens in shock induced by *Escherichia coli*. *Avian Dis* 30, 247-254.

FERRON A. (1986). Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine, Paris : Ed. C. et R., 374 p.

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

FILALI, E., BELL, J.G., EL HOUADFI, M., HUGGINS, M. B., COOK, J. K. A. (1988). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticaemia in Morocco. *Comp. Immun. Microbial. Infect. Dis.*, 11 : 121-124.

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

FLUIT A.C. et VISSER M. R., 2001.- Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev.*, 14 (4): 836 – 871

FOURNIER G., PAUL G., VEDEL G., NEVOT P. (2006). Détection et distribution des bêta-lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries. *Med. Mal. Inf.* 12: 869-76.

FONTAINE M. 1993. Vade-Mecum du vétérinaire. 15^{ème} éd. Vol 3, 116-117.

FORGE, A., AND SCHACHT, J. (2000) Aminoglycoside antibiotics. *Audiol Neurootol* 5 : 3-22.

HAMMOUDI M.A., 2008.- Etude de la colibacillose aviaire : Epidémiologie, antibiorésistance et caractérisation des gènes de virulence par méthode PCR, 124 p.

HOOPER, D.C. (2001) Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis* 7: 337-41.

HOOPER, D.C., AND RUBINSTEIN, E. (2003) Quinolone antimicrobial agents. *American Soc Microbiol* p:485.

JOHNSON, J. R. AND T. A. RUSSO (2002). "Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: "The other bad E coli". *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 139(3): 155-162.

JOHNSON, T.J., WANNEMUEHLER, Y., DOETKOTT, C., JOHNSON, S.J., ROSENBERGER, S.C., NOLAN, L.K. (2008) Identification of minimal predictors of avian

pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. *J Clin Microbiol.* Dec;46(12):3987-96.

JOLY B. et REYNAUD A. (2002). Entérobactéries systématique et méthodes de diagnostic. Edition TEC & DOC.

KAPER, J. B., J. P. NATARO AND H. L. MOBLEY (2004)."Pathogenic *Escherichia coli*." *Nat Rev Microbiol* (2): 123-140.

KAPER, J. B., J. P. NATARO and H. L. MOBLEY (2004)."Pathogenic *Escherichia coli*." *Nat Rev Microbiol* 2(2): 123-140.

KATTAN, J.N., VILLEGAS, M.V., AND QUINN, J.P. (2008) New developments in carbapenems. *Clin Microbiol Infect* 14 :1102-11.

KERN-BERNAIBOUT E.M., 2006.- *Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'homme : Synthèse bibliographique sur le portage par les animaux domestiques et la transmission à l'homme par la contamination de l'environnement. Thèse: Méd. Vét: Toulouse: ENVT

KAPER, J. B., J. P., NATARO AND H. L. MOBLEY, (2004). "Pathogenic *Escherichia coli*." *Nat Rev Microbiol* 2(2): 123-140.

KOTRA, L.P., HADDAD, J., AND MOBASHERY, S. (2000) Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. *Antimicrob Agents Chemother*44: 3249-56.

LAMBERT, T. (1997) Etat actuel de la sensibilité des bactéries aux aminosides. *RéanUrg* 6:9-16.

LAAREM M., BARGUIGUA A., NAYME K., AKILAS A., ZEROUALI K., EL MDAGHRI N. and TIMINOUNI M. (2017). Occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance and virulence genes in avian *Escherichia coli* isolates from Algeria. *J Infect Dev Ctries*11(2):143-151.

LESHER, G.Y., FROELICH, E.J., GRUETT, M.D., BAILEY, J.H., AND BRUNDAGE, R.P. (1962) 1,8-Naphthyridine Dérivatives. A new class of chemotherapeutic agents. *J Med Pharm Chem*91:1063-65.

LEVINE, C., HIASA, H., AND MARIANS, K.J. (1998) DNA gyrase and topoisomerase IV: biochemical activities, physiological roles during chromosome replication, and drug sensitivities. *BiochimBiophysActa***1400**: 29-43.

LIVERMORE, D.M. (1995) Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin MicrobiolRev***8**:557-84.

LOBRIL JR. (1998). Réévaluation du modèle de croissance de Monode : effet des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse université de Lyon I France 1998.

LOUNIS, M., GE, Z., YUEHUA, L., GAO, Y., KAIDI, R., OUMOUNA, M., WANG J. AND OUMOUNA, K. (2018) Virulence traits of avian pathogenic (APEC) and fecal (AFEC) E. coli isolated from broiler chickens in Algeria. *Trop Anim Health Prod.* Mar; 50 (3):547-553.

LI Y., CHEN L., WU X. and HUO S. (2015). Molecular characterization of multidrug resistant avian pathogenic Escherichia coli isolated from septicemic broilers. *Poultry Science* 94:601-611.

MAGNET, S., AND BLANCHARD, J.S. (2005) "Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. « *Chem Rev* **105** : 477-98.

MEGUENNI N. (2016). Caractérisation phénotypique et génotypique de la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds chez les souches d'Escherichia coli pathogènes aviaires. Thèse doctorat en Sciences Biologiques: Microbiologie. Algérie. 176 pages.

MAINIL J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli : II) Franchissement des muqueuses et propriétés invasives. *Ann. Médecinevétérinaire***147**: 159-171.

MESSAÏ C. R., KHELEF D., BOUKHORS K. T., RADJI N., GOUCEM R. and HAMDI T. -M. (2013). Antimicrobial susceptibility of Escherichia coli strains isolated from broiler chickens affected by colibacillosis in Setif. *African Journal of Microbiology Research*, volume 7 (21): 2668-2672.

NGUYEN, J.C., AND LAMBERT, T. (2012) Interpretative analysis of aminoglycoside resistance by the antibiogram. *Rev Francoph Lab* 445:75-77.

NORDMANN, P., AND CARRER, A. (2010) Carbapenemases in enterobacteriaceae. *Arch Pediatr***17**:154-62.

PAYNE S. M. 1988. Iron and virulence in the family Enterobacteriaceae. *Cristal revue in microbiology*, 16,81-111.

PHILIPPON, A. (2008) Entérobactéries des bêta-lactamines. *Elsevier Masson SAS, Paris, Biologie clinique* 90-05- 0145 : 1-18.

POYART. C. 2002. Résistance des bactéries aux antibiotiques. Bactériologie générale PCEM2. Faculté de médecine Necker Enfants malades, page 56.

PRESCOTT, L.M., KLEIN, D.A., ET HARLEY, J.P. (2010) Microbiologie 3^{ème} édition *De Boeck* 1088 pages.

ROBIN, F., GIBOLD, L., AND BONNET, R. (2012) Intrinsic or acquired resistant to β -lactams in *Enterobacteriaceae*: How to identify them in clinical practice *RevFrancophLab* 445:47-58.

ROBIN, F., BEYROUTHY, R., DABBOUSSI, F., MALLAT, H., HAMZI, M., BONNET .(2012). Carbapenemase and virulence factors of enterobacteriaceae in north lebanon between 2008 and 2012 : evolution via endemic spread of OXA-48.

RUPPÉ, E. (2010) Epidemiology of expanded-spectrum beta-lactamases: The rise of CTX-M. *Antibiotiques* 12:3-16.

SUBEDI, M., BHATTARI, R.K., DEVKOTA, B., PHUYAL, S., LUITEL, H. (2018) Antibiotic resistance pattern and virulence genes content in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) from broiler chickens in Chitwan, Nepal.

SINGLETON P. (2005). Identification of Bacteria, Chap. 15, in *Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine*, 6th edition. John Wiley & Sons Ltd, England.

SOUMAILA GARBA A., (2012). Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isolés des cas de colibacillooses aviaires au Sénégal. Thèse doctorat en médecine vétérinaire. Sénégal. 81 pages

SOUSSY, C.J. (2006) Quinolones et bactéries à GRAM négatif. In: Courvalin, P., Leclercq, R., and Bingen, E. AntibioGramme. *Paris ESKA 2^{ème} édition* **21**: 261-77.

TABER, H.W., MUELLER, J.P., MILLER, P.F., AND ARROW, A.S. (1987) Bacterial uptake of aminoglycoside antibiotics. *MicrobiolRev* **51**: 439-57.

VAISH R., PRADEEP M., SETTY C. and KANDI V. (2016). Evaluation of Virulence Factors and Antibiotic Sensitivity Pattern of *Escherichia coli* Isolated from Extra intestinal.

VAKULENKO, S.B., AND MOBASHERY, S. (2003) Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin Microbiol Rev* 16:430-50.

VAN BAMBEKE F et TULKENS P., 2008.- Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse. Syllabus national belge de pharmacologie : Bruxelles. - 202p.

VAN BAMBEKE F. and TULKENS P. (2010). Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse 1. Antibiotiques 2. Antifongiques.

ZECHIEDRICH, E.L., KHODURSKY, A.B., AND COZZARELLI, N.R. (1997) Topoisomerase IV, not gyrase, decatenates products of site-specific recombination in *Escherichia coli*. *Genes Dev*11: 2580-92.

ZHANEL, G.G., HOBAN, D., SCHUREK, K., AND KARLOWSKY, J.A. (2004) Role of efflux mechanisms on fluoroquinolones resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents* 24 : 529-35.

Liens

<https://fr.wikipedia.org/wiki/B%C3%AAta-Lactame#/media/Fichier:Betalactam.svg>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Chloramph%C3%A9nicol>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Colistine>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Quinolone>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Streptomycine>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Sulfam%C3%A9thoxazole>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/T%C3%A9tracycline>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Trim%C3%A9thoprime>

www.bacteriologie.ne

https://fr.wikipedia.org/wiki/Rouge_congo#/media/Fichier:Congo-red-2D-skeletal.png

<http://www.champignons-passion.be/RougeCongoSDS2011.pdf>

Annexes

Annexe 1 : Milieux de cultures et leurs compositions :

1. Milieux liquides : Composition en gramme par litre d'eau distillée.

- **Bouillon cœur-cerveille(BHIB) :**

C'est un milieu d'enrichissement des bactéries.

Composition :

- Cœur de bœuf	5g.
- Cœur de veau	12,5g.
- Glucose	2g.
- Peptone	10g.
- Chlorure de sodium	5g.
- Phosphate de disodique	2,5.
- pH	7

- **Rappaport vassiliadis :(Milieu d'enrichissement).**

Composition :

- Peptone de caséine	5g.
- Chlorure de sodium	8g.
- Phosphate dipotassique	0,8g.
- Chlorure de magnésium	40g.
- Vert de malachite	0,12g.
- pH	6

- **Milieu urée-indole :**

Permet la recherche de l'Uréase, la production d'indole et le tryptophane désaminase (TDA).

Composition :

- L-tryptophane	3g.
- Urée	20g.
- Phosphate dipotassique	1g.
- Phosphate monopotassique	1g.
- Chlorure de sodium	5g.
- Rouge de phénol	2,5g.
- pH	6,7g.
- Alcool	

0,01ml.

- **Eau physiologique :**

Composition : - Chlorure de sodium	9g.
- pH	7.

2. Milieux gélosés : Composition en gramme par litre d'eau distillée.

- **Gélose Hektoen :**

La gélose Hektoen est un milieu d'isolement des entérobactéries pathogènes. Il permet la différenciation des bactéries lactose positives.

Composition :

- Protéose peptone	12g.
- Extrait de levure	3g.
- Chlorure de sodium	5g.
- Sels biliaires	9g.
- Thiosulfate de sodium	5g.
- Citrate de fer ammoniacal	1,5g.
- Salicine	2g.
- Saccharose	12g.
- Lactose	12g.
- Fuschine acide	0,1g.
- Bleu de bromothymol	0,065g.
- Agar	14g.
- pH	7

- **Gélose nutritive :**

Ce milieu convient à la culture des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières, il maintient l'aspect morphologique et il assure la pureté des germes isolés.

Composition :

- Peptone	10g.
- Extrait de viande	3g.
- Extrait de levure	3g.
- Chlorure de sodium	5g.
- Agar	10g.
- pH	7,3.

- **Mueller Hinton :**

Milieu utilisé pour la recherche de sensibilité et la résistance des germes aux antibiotiques.

Composition :

- Extrait de viande	3g.
- Hydrolysate acide de caséine	17,5.
- Amidon	1,5g.
- Agar	16g.
- pH	7.

- **Gélose de glucose, lactose, saccharose et H₂S(TSI) :**

Le milieu TSI permet l'identification rapide des entérobactéries, par la mise en évidence de la dégradation du glucose (avec ou sans dégagement de gaz), du lactose, le saccharose et la production d'H₂S.

Composition :

- Peptone de viande	15g.
- Protéose peptone	5g.
- Extrait de viande	3g.
- Extrait de levure	3g.
- Glucose	1g.
- Lactose	10g.
- Saccharose	10g.
- Citrate de fer ammoniacal	0,3g.
- Chlorure de sodium	5g.
- Thiosulfate de sodium	0,3g.
- Rouge de phénol	0,05g.
- Agar	18g.
- pH	7,4

- **Mannitol-Mobilité :**

Milieu de différenciation rapide des entérobactéries, permet la recherche simultanément de la mobilité et la dégradation du mannitol.

Composition :

- Peptone de viande	15g.
- Extrait de viande	3g.
- Mannitol	10g.
- Potassium nitrate	1g.
- Rouge de phénol	0,05.
- Agar	5g.
- pH	7,8

Annexes 2 : Tableaux :

Tableau VII : Souches d'*Escherichia coli* dans des échantillons d'organes aviaires

N	Code de référence	Types de prélèvements	Origines	Date de début d'analyse	Région
S 1	2172 bt1	organes	poulets de chair	06/05/2019	Médéa (sou agui)
S 2	2172 bt2	organes	poulets de chair	06/05/2019	Médéa (sou agui)
S 3	2172 bt3	organes	poulets de chair	06/05/2019	Médéa (sou agui)
S 4	2172 bt4	organes	poulets de 5chair	06/05/2019	Médéa (sou agui)
S 5	2265	organes	poules R-chair	26/05/2019	Bouira (El Asnam)
S 6	2314 bt1	organes	poulets de chair	20/05/2019	Bordj Bou Arreridj (Ain Taghrout)
S 7	2341 bt1	organes	dinde big 9 /56j	21/05/2019	Bouira (Ain laloui)
S 8	2343 bt1	organes	poulets de chair 3-6 s	21/05/2019	Bouira (Bir Ghablou)
S 9	2343 bt3	organes	poulets de chair 3-6 s	21/05/2019	Bouira (Bir Ghablou)
S 10	2343 bt4	organes	poulets de chair 3-6 s	21/05/2019	Bouira (bir Ghablou)
S 11	2339	organes	poules pondeuses	21/05/2019	Msila (Maadid)
S 12	2402	organes	poussins 3éme s	28/05/2019	Béjaia (Ait-R-zine)
S 13	2406 bt10	Organes	Poules pondeuse	29/05/2019	Msila (Ain khadra)
S 14	2406 bt9	Organes	Poules pondeuse	29/05/2019	Msila (Ain Khadra)
S 15	2456 bt3	organes	poussin repro-chair	29/05/2019	Bouira (Ain laloui)
S 16	2456 bt2	organes	Poussin repro-chair	29/05/2019	Bouira (Ain laloui)

Tableau VII : (suite) : Souches d'*Escherichia coli* dans des échantillons d'organes aviaires.

N	Code de référence	Types de prélèvements	Origines	Date de début d'analyse	Région
S 17	2456 bt1	organes	Poussin repro-chair 2j	29/05/2019	Bouira (Ain laloui)
S 18	2456 bt4	organes	poussin repro-chair 2j	29/05/2019	Bouira (Ain laloui)
S 19	2484	organes	poulettes démarrée 26 j	03/06/2019	Tizi-Ouzou(DEM)
S 20	2499	organes c.exp	poulet de chair	09/06/2019	Alger (Bir touta)
S 21	2512 bt2	organes	Poule-R-chair	10/06/2019	Bouira (Ain laloui)
S 22	2523 bt1	Organe contre-expertise	(poulets de chair 48j)	11/06/2019	Médéa (Ain boucif)
S 23	2523 bt2	Organe contre-expertise	(poulets de chair 48j)	11/06/2019	Médéa (Ain boucif)
S 24	2523 bt4	Organe contre-expertise	(poulets de chair 48j)	11/06/2019	Médéa (Ain boucif)
S 25	2555 bt2	Organes	Poulets chair 6 sem.	12/06/2019	Bouira (Bir ghbola)
S 26	2590 bt2	Organes poulets chair	poulets chair	16/06/2019	Tizi-Ouzou (Draa El Mizan)
S 27	2608 bt2	Organes c.exp	Poules pondeuses	18/06/2019	Ain Defla (bordj emir khaled)
S 28	2608 bt3	Organes c.exp	Poules pondeuses	18/06/2019	Ain Defla (bordj emir khaled)
S 29	2665	Organes	Poussin chair	23/06/2019	Msila (ouled-derradj)
S 30	2686 bt1	Organes	Poulets chair	24/06/2019	Béjaia (semaoun)

Tableau VII : (suite) : Souches d'*Escherichia coli* dans des échantillons d'organes aviaires.

N	Code de référence	Types de prélèvements	Origines	Date de début d'analyse	Région
S 31	2686 bt4	Organes	Poulets chair	24/06/2019	Béjaia (semaoun)
S 32	2750 bt2	Organes	Poulet de chair 35J	30/06/2019	Boumerdès (Raghata)
S 33	2750 bt3	Organes	Poulet de chair 35J	30/06/2019	Boumerdès (Raghata)
S 34	2750 bt4	Organes	Poulet de chair 35J	30/06/2019	Boumerdès (Raghata)
S 35	2763 bt1	Organes c.expertise	Poulette démarrée 70j	01/07/2019	Ain defla(BEK)
S 36	2763 bt2	Organes	Poulette démarrée 70j c.exp	01/07/2019	Ain defla(BEK)
S 37	2763 bt3	Organes	Poulette démarrée 70j c.exp	01/07/2019	Ain defla(BEK)
S 38	2763 bt4	Organes	Poulette démarrée 70j c.exp	01/07/2019	Ain defla(BEK)
S 39	2770	Organes	Poulette démarrée 16sem	01/07/2019	Béjaia(Amizour)
S 40	2777 bt1	Organes	Poule.R. ponte 26 sem	02/07/2019	Bordj.bou.Arerrridj
S 41	2777 bt2	Organes	Poule.R. .ponte 26 sem	02/07/2019	Bordj.bou.Arerrridj (Ain Taghrout)
S 42	2777 bt3	Organes	Poule.R. ponte 26 sem	02/07/2019	Bordj.bou.Arerrridj (Ain Taghrout)

Tableau VII :(suite) : Souches d'*Escherichia coli* dans des échantillons d'organes aviaires.

N	Code de référence	Types de prélèvements	Origines	Date de début d'analyse	Région
S 43	2777 bt4	Organes	Poule.R. ponte 26 sem	02/07/2019	Bordj.bou.Arerrridj (Ain Taghrout)
S 44	2777 bt5	Organes	Poule.R. ponte 26 sem	02/07/2019	Bordj.bou.Arerrridj (Ain Taghrout)
S 45	2796	Organes	Poussin chair 1j	03/07/2019	Bordj.bou.Arerrridj (Ain Taghrout)
S 46	2815	Organes	Poulette démarrée 14 sem	07/07/2019	Msila (Belaiba)
S 47	2857	Organes	Poule pondeuse	08/07/2019	Bordj.Bou.Arerrridj (khelil)
S 48	2933	Organes	Poussin.R.c hair	15/07/2019	Bouira (El Asnam)
S 49	2916 bt2	Organes	Poulette.F.p ondeuse	11/07/2019	Ain Defla
S 50	3080 bt4	Organes	Poule.R .chair	28/07/2019	Bordj.Bou.Arerrridj (Ain tagrout)

Tableau VIII : Résultats des tests biochimiques réalisés sur les souches.

N	Uréase	Indole	Mannitol	Mobilité	ONPG	Oxydase	catalase	TSI		
								glu	lac	sac
S 1	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 2	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 3	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 4	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 5	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 6	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 7	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 8	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 9	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 10	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 11	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 12	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 13	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 14	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 15	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 16	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 17	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 18	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 19	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 20	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 21	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 22	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 23	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 24	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 25	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 26	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 27	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 28	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 29	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 30	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 31	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 32	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 33	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 34	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+

Tableau VIII :(suite) : Résultats des tests biochimiques réalisés sur les Souches.

N	Uréase	Indole	Mannitol	Mobilité	ONPG	Oxydase	catalase	TSI		
								glu	lac	sac
S 35	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 36	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 37	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 38	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 39	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 40	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 41	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 42	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 43	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 44	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 45	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 46	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 47	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 48	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 49	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
S 50	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+

Tableau IX : Profil de résistance des souches testées.

Souches ATB	AMX	AMP	AMC	SXT	TET	CAZ	XNL	CEF	ENR	CHL	COL	NAL	IMP	FTN	KNM	NEO	GNM	MAR
Limites	≥19 S <19 R	≥14 S <14 R	≥19 S <19 R	≥16 S <10 R	≥19 S <17 R	≥22 S <19 R	≥21 S <18 R	≥18 S <12 R	≥19 S <19 R	≥17 S <17 R	≥15 S <15 R	≥14 S <14 R	≥22 S <16 R	≥11 S <11 R	≥17 S <15 R	≥17 S <15 R	≥17 S <14 R	≥19 S <19 R
S25922	19 S	19 S	24 S	32 S	09 R	31 S	32 S	25 S	32 S	31 S	19 S	24 S	30 S	21 S	28 S	28 S	24 S	32 S
S01	17 R	17 S	16 R	23 S	06 R	27 S	27 S	19 S	06 R	27 S	16 S	06 R	30 S	19 S	23 S	23 S	24 S	06 R
S02	06 R	06 R	13 R	06 R	06 R	27 S	27 S	19 S	06 R	16 R	13 R	06 R	29 S	19 R	10 R	10 R	24 S	06 R
S03	06 R	06 R	18 R	06 R	06 R	26 S	26 S	17 S	06 R	08 R	16 S	08 R	27 S	18 S	06 R	06 R	23 S	06 R
S04	06 R	06 R	13 R	25 S	06 R	25 S	25 S	18 S	06 R	27 S	15 S	06 R	25 S	16 S	21 S	21 S	23 S	06 R
S05	06 R	06 R	13 R	06 R	06 R	22 S	29 S	11 R	06 R	30 S	15 S	06 R	32 S	15 S	23 S	23 S	26 S	06 R
S06	06 R	06 R	18 R	06 R	06 R	23 S	31 S	17 R+I	06 R	30 S	18 S	06 R	32 S	06 R	06 R	06 R	28 S	10 R
S07	20 S	20 S	19 S	19 S	06 R	26 S	31 S	10 R	06 R	06 R	18 S	06 R	31 S	21 S	06 R	06 R	25 S	10 R

Le diamètre du disque d'antibiotique étant de 6mm, AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; TET : Tétracycline ; IMP : Imipénème ; CEF : Céfalotine ; CAZ : Ceftazidime ; NAL : Acide nalidixique ; GEN : Gentamicine ; KNM : Kanamycine ; SXT : Triméthoprim/sulfaméthoxazole ; COL : colistine ; XNL : Céftiofur ; ENR : Enrofloxacin ; CHL : Chloramphénicol ; FTN : Nitrofurantoine ; NEO : Néomycine ; MAR : Marbofloxacin.

Tableau IX (suite): Profil de résistance des souches testées

Souches ATB	AMX	AMP	AMC	SXT	TET	CAZ	XNL	CEF	ENR	CHL	COL	NAL	IMP	FTN	KNM	NEO	GNM	MAR
Limites	≥19	≥14	≥19	≥16	≥19	≥22	≥21	≥18	≥19	≥17	≥15	≥14	≥22	≥11	≥17	≥17	≥17	≥19
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<19	<14	<19	<10	<17	<19	<18	<12	<19	<17	<15	<14	<16	<11	<15	<15	<14	<19
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S08	06 R	06 R	13 R	06 R	06 R	23 S	29 S	11 R	06 R	14 R	17 S	06 R	33 S	21 S	06 R	06 R	26 S	09 R
S09	06 R	06 R	12 R	06 R	06 R	23 S	27 S	10 R	06 R	18 S	15 S	06 R	31 S	19 S	06 R	06 R	26 S	06 R
S10	22 S	22 S	21 S	06 R	06 R	24 S	31 S	12 R+I	20 S	30 S	17 S	06 R	32 S	19 S	20 S	20 S	25 S	24 S
S11	23 S	23 S	13 R	27 R	06 R	25 S	30 S	17 R+I	28 S	27 S	17 S	06 R	33 S	18 S	22 S	22 S	26 S	34 S
S12	06 R	06 R	06 R	06 R	06 R	10 R	18 R+I	06 R	06 R	26 S	16 S	06 R	25 S	10 R	06 R	06 R	25 S	06 R
S13	06 R	06 R	11 R	06 R	06 R	23 S	26 S	10 R	06 R	22 S	17 S	06 R	30 S	10 R	06 R	06 R	26 S	06 R
S14	06 R	06 R	12 R	06 R	06 R	28 S	36 S	24 S	06 R	14 R+I	20 S	06 R	36 S	17 S	13 R	13 R	26 S	11 R
S15	06 R	06 R	13 R	06 R	06 R	25 S	30 S	12 R+I	06 R	29 S	18 S	06 R	32 S	12 S	20 S	20 S	25 S	09 R

Le diamètre du disque d'antibiotique étant de 6mm, AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; TET : Tétracycline ; IPM : Imipénème ; CEF : Céfalotine ; CAZ : Ceftazidime ; NAL : Acide nalidixique ; GEN : Gentamicine ; KNM : Kanamycine ; SXT : Triméthoprime/sulfaméthoxazole ; COL : colistine ; XNL : Céftiofur ; ENR : Enrofloxacin ; CHL : Chloramphénicol ; FTN : Nitrofurantoine ; NEO : Néomycine ; MAR : Marbofloxacin.

Tableau 9 (suite): Profil de résistance des souches testées

Souches ATB	AMX	AMP	AMC	SXT	TET	CAZ	XNL	CEF	ENR	CHL	COL	NAL	IMP	FTN	KNM	NEO	GNM	MAR
Limites	≥19 S <19 R	≥14 S <14 R	≥19 S <19 R	≥16 S <10 R	≥19 S <17 R	≥22 S <19 R	≥21 S <18 R	≥18 S <12 R	≥19 S <19 R	≥17 S <17 R	≥15 S <15 R	≥14 S <14 R	≥22 S <16 R	≥11 S <11 R	≥17 S <15 R	≥17 S <15 R	≥17 S <14 R	≥19 S <19 R
S16	06 R	06 R	06 R	18 S	06 R	06 R	23 S	06 R	26 S	24 S	20 S	21 S	35 S	16 S	27 S	27 S	15 R+I	31 S
S17	06 R	06 R	06 R	28 R	06 R	06 R	08 R	06 R	18 R+I	30 S	17 S	06 R	26 S	16 S	25 S	25 S	26 S	24 S
S18	06 R	06 R	08 R	23 S	13 R+I	06 R	06 R	06 R	22 S	22 S	12 R	21 S	19 R+I	13 S	18 S	18 S	17 S	26 S
S19	26 S	26 S	25 S	30 S	06 R	26 S	32 S	18 S	20 S	31 S	18 S	06 R	31 S	18 S	21 S	21 S	26 S	24 S
S20	18 R+I	18 S	15 R	27 S	16 R	26 S	30 S	12 R+I	30 S	30 S	17 S	24 S	32 S	22 S	27 S	27 S	22 S	34 S
S21	19 S	19 S	19 S	06 R	17 R+I	23 S	28 S	20 S	07 R	27 S	17 S	06 R	31 S	20 S	24 S	24 S	26 S	10 R
S22	06 R	06 R	13 R	06 R	06 R	38 S	38 S	23 S	06 R	12 R	25 S	06 R	38 S	22 S	30 S	30 S	28 S	06 R
S23	26 S	26 S	13 R	23 S	09 R	22 S	28 S	18 S	06 R	15 R	06 R	06 R	27 S	09 R	09 R	09 R	25 S	24 S

Le diamètre du disque d'antibiotique étant de 6mm, AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; TET : Tétracycline ; IPM : Imipénème ; CEF : Céfotaxime ; CAZ : Ceftazidime ; NAL : Acide nalidixique ; GEN : Gentamicine ; KNM : Kanamycine ; SXT : Triméthoprime/sulfaméthoxazole ; COL : colistine ; XNL : Céftiofur ; ENR : Enrofloxacin ; CHL : Chloramphénicol ; FTN : Nitrofurantoin ; NEO : Néomycine ; MAR : Marbofloxacin.

Tableau IX (suite): Profil de résistance des souches testées

Souches ATB	AMX	AMP	AMC	SXT	TET	CAZ	XNL	CEF	ENR	CHL	COL	NAL	IMP	FTN	KNM	NEO	GNM	MAR
Limites	≥19	≥14	≥19	≥16	≥19	≥22	≥21	≥18	≥19	≥17	≥15	≥14	≥22	≥11	≥17	≥17	≥17	≥19
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<19	<14	<19	<10	<17	<19	<18	<12	<19	<17	<15	<14	<16	<11	<15	<15	<14	<19
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S24	06 R	06 R	13 R	31 S	06 R	32 S	37 S	24 S	06 R	31 S	22 S	09 R	36 S	27 S	28 S	28 S	13 R	12 R
S25	24 S	24 S	22 S	33 S	06 R	27 S	34 S	24 S	21 S	31 S	19 S	10 R	36 S	25 S	27 S	27 S	27 S	26 S
S26	06 R	06 R	12 R	06 R	06 R	29 S	35 S	25 S	06 R	07 R	25 S	06 R	38 S	24 S	10 R	10 R	28 S	09 R
S27	06 R	06 R	14 R	06 R	06 R	34 S	36 S	20 S	06 R	30 S	27 S	16 S	38 S	21 S	27 S	27 S	32 S	06 R
S28	06 R	06 R	13 R	29 S	06 R	30 S	30 S	22 S	06 R	29 S	16 S	06 R	33 S	23 S	26 S	26 S	27 S	11 R
S29	06 R	06 R	13 R	25 S	06 R	22 S	27 S	20 S	06 R	25 S	19 S	06 R	32 S	20 S	23 S	23 S	24 S	06 R
S30	06 R	06 R	13 R	06 R	06 R	24 S	24 S	16 I+R	06 R	16 R	14 R	06 R	24 S	15 S	10 R	10 R	21 S	06 R
S31	14 R	14 R	16 R	21 S	06 R	26 S	26 S	17 I+R	15 R	25 S	17 S	06 R	30 S	18 S	19 S	19 S	25 S	06 R

Le diamètre du disque d'antibiotique étant de 6mm, AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; TET : Tétracycline ; IPM : Imipénème ; CEF : Céfalotine ; CAZ : Ceftazidime ; NAL : Acide nalidixique ; GEN : Gentamicine ; KNM : Kanamycine ; SXT : Triméthoprime/sulfaméthoxazole ; COL : colistine ; XNL : Céftiofur ; ENR : Enrofloxacin ; CHL : Chloramphénicol ; FTN : Nitrofurantoine ; NEO : Néomycine ; MAR : Marbofloxacin

Tableau IX (suite) : Profil de résistance des souches testées

Souches ATB	AMX	AMP	AMC	SXT	TET	CAZ	XNL	CEF	ENR	CHL	COL	NAL	IMP	FTN	KNM	NEO	GNM	MAR
Limites	≥19	≥14	≥19	≥16	≥19	≥22	≥21	≥18	≥19	≥17	≥15	≥14	≥22	≥11	≥17	≥17	≥17	≥19
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<19	<14	<19	<10	<17	<19	<18	<12	<19	<17	<15	<14	<16	<11	<15	<15	<14	<19
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S32	06 R	06 R	18 R	06 R	06 R	24 S	25 S	17 R+I	16 R	25 S	16 S	15 S	24 S	17 S	06 R	06 R	10 R	22 S
S33	06 R	06 R	18 R	06 R	06 R	26 S	26 S	18 S	14 R	26 S	16 S	06 R	21 R+I	17 S	18 S	18 S	21 S	21 S
S34	06 R	06 R	15 R	06 R	06 R	26 S	19 R+I	14 R+I	24 S	23 S	15 S	06 R	29 S	14 S	06 R	06 R	21 S	12 R
S35	20 S	20 S	21 S	29 S	06 R	30 S	31 S	23 S	06 R	28 S	18 S	06 R	27 S	17 S	23 S	23 S	25 S	11 R
S36	06 R	06 R	19 S	06 R	06 R	30 S	30 S	21 S	08 R	28 S	18 S	06 R	33 S	12 S	25 S	25 S	24 S	13 R
S37	18 R	18 S	22 S	32 S	06 R	30 S	27 S	20 S	09 R	29 S	15 S	06 R	29 S	11 R	23 S	23 S	22 S	14 R
S38	06 R	06 R	17 R	06 R	06 R	25 S	24 S	16 R+I	06 R	10 R	13 R	06 R	27 S	13 S	06 R	06 R	19 S	10 R
S39	06 R	06 R	20 S	06 R	06 R	27 S	28 S	23 S	06 R	27 S	16 S	06 R	28 S	17 S	06 R	06 R	23 S	11 R

Le diamètre du disque d'antibiotique étant de 6mm, AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; TET : Tétracycline ; IPM : Imipénème ; CEF : Céfalotine ; CAZ : Ceftazidime ; NAL : Acide nalidixique ; GEN : Gentamicine ; KNM : Kanamycine ; SXT : Triméthoprime/sulfaméthoxazole ; COL : colistine ; XNL : Céftiofur ; ENR : Enrofloxacin ; CHL : Chloramphénicol ; FTN : Nitrofurantoine ; NEO : Néomycine ; MAR : Marbofloxacin.

Tableau IX (suite): Profil de résistance des souches testées

Souches ATB	AMX	AMP	AMC	SXT	TET	CAZ	XNL	CEF	ENR	CHL	COL	NAL	IMP	FTN	KNM	NEO	GNM	MAR
Limites	≥19	≥14	≥19	≥16	≥19	≥22	≥21	≥18	≥19	≥17	≥15	≥14	≥22	≥11	≥17	≥17	≥17	≥19
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<19	<14	<19	<10	<17	<19	<18	<12	<19	<17	<15	<14	<16	<11	<15	<15	<14	<19
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S40	16 R	16 S	18 R	23 S	17 R+I	26 S	24 S	18 S	24 S	25 S	15 S	21 S	30 S	17 S	06 R	06 R	21 S	30 S
S41	16 R	16 S	20 S	25 S	06 R	25 S	25 S	18 S	27 S	26 S	15 S	21 S	26 S	16 S	18 S	18 S	20 S	30 S
S42	15 R	15 S	20 S	24 S	06 R	27 S	27 S	11 R	26 S	25 S	16 S	20 S	25 S	16 S	18 S	18 S	22 S	30 S
S43	12 R	12 R	19 S	06 R	06 R	25 S	26 S	18 S	17 R+I	27 S	16 S	06 R	24 S	19 S	20 S	20 S	22 S	22 S
S44	06 R	06 R	20 S	06 R	06 R	27 S	27 S	16 R+I	06 R	06 R	17 S	06 R	27 S	17 S	06 R	06 R	23 S	27 S
S45	06 R	06 R	19 S	06 R	06 R	26 S	25 S	18 S	20 S	12 R+I	13 R	21 S	25 S	22 S	06 R	06 R	22 S	24 S
S46	17 R	17 S	22 S	24 S	20 S	25 S	24 S	18 S	32 S	26 S	13 R	27 S	26 S	20 S	20 S	20 S	18 S	31 S
S47	17 R	17 S	19 S	27 S	06 R	23 S	23 S	16 R+I	20 S	23 S	12 R	08 R	24 S	17 S	19 S	19 S	19 S	24 S

Le diamètre du disque d'antibiotique étant de 6mm, AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; TET : Tétracycline ; IPM : Imipénème ; CEF : Céfalotine ; CAZ : Ceftazidime ; NAL : Acide nalidixique ; GEN : Gentamicine ; KNM : Kanamycine ; SXT : Triméthoprime/sulfaméthoxazole ; COL : colistine ; XNL : Céftiofur ; ENR : Enrofloxacin ; CHL : Chloramphénicol ; FTN : Nitrofurantoine ; NEO : Néomycine ; MAR : Marbofloxacin.

Tableau IX (suite): Profil de résistance des souches testées

Souches ATB	AMX	AMP	AMC	SXT	TET	CAZ	XNL	CEF	ENR	CHL	COL	NAL	IMP	FTN	KNM	NEO	GNM	MAR
Limites	≥19	≥14	≥19	≥16	≥19	≥22	≥21	≥18	≥19	≥17	≥15	≥14	≥22	≥11	≥17	≥17	≥17	≥19
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<19	<14	<19	<10	<17	<19	<18	<12	<19	<17	<15	<14	<16	<11	<15	<15	<14	<19
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S48	06	06	15	18	06	12	15	12	16	23	12	14	19	14	14	14	08	21
	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	S	R+I	S	R	R	R	S
S49	15	15	18	17	06	22	22	20	12	19	13	06	25	19	21	21	20	10
	R	S	R	S	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R
S50	16	16	18	16	16	24	27	12	26	26	17	20	25	18	22	22	23	30
	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Le diamètre du disque d'antibiotique étant de 6mm, AMX : Amoxicilline ; AMP : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; TET : Tétracycline ; IPM : Imipénème ; CEF : Céfalotine ; CAZ : Ceftazidime ; NAL : Acide nalidixique ; GEN : Gentamicine ; KNM : Kanamycine ; SXT : Triméthoprim/sulfaméthoxazole ; COL : colistine ; XNL : Céftiofur ; ENR : Enrofloxacin ; CHL : Chloramphénicol ; FTN : Nitrofurantoine ; NEO : Néomycine ; MAR : Marbofloxacin.

Tableau X : Limites des diamètres des zones d'inhibitions pour ATCC 25922

Antibiotiques	Charge de disque	Diamètres d'inhibition (mm)	
		ATCC 25922	Limites acceptables
Amoxicilline	25 µg	21	22-17
Ampicilline	10µg	18-19	15-22
Amoxicilline+acide clavulanique	30 µg	21	18-24
Acide nalidixique	30 µg	25	22-28
Céfaloine	30 µg	20	18-22
Céftazidime	30 µg	26	23-29
Céftiofur	30 µg	24	27-32
Imipenème	10 µg	29	26-32
Gentamicine	10 µg	22-23	19-26
Kanamycine	30 µg	21	19-25
Néomycine	30 µg	21	19-25
Tétracycline	30 µg	19	/
Chloramphénicols	30 µg	24	21-27
Colistine	10 µg	16	/
Triméthoprim +sulfaméthoxazole	25 µg	26	23-29
Nitrofurantoin	300 µg	20	17-23
Enrofloxacin	5 µg	32	30-37
Marbofloxacin	5 µg	30	/

Tableau XI: Le profil de sensibilité de l'ATCC 25922

ATB Cq	A M C	A MX	A M P	S X T	T E T	C A Z	X N L	C E F	E N R	C H L	C O L	N A L	I P M	F T N	K NM	N E O	G MN	M A R
	≥19 S <19 R	≥14 S <14 R	≥19 S <19 R	≥16 S <10 R	≥19 S <17 R	≥22 S <19 R	≥21 S <18 R	≥18 S <12 R	≥19 S <19 R	≥17 S <17 R	≥15 S <15 R	≥14 S <14 R	≥22 S <16 R	≥11 S <11 R	≥17 S <15 R	≥17 S <15 R	≥17 S <14 R	≥19 S <19 R
1	24 S	19 S	19 S	30 S	09 S	29 S	30 S	25 S	32 S	28 S	19 S	24 S	30 S	21 S	25 S	26 S	24 S	32 S
2	23 S	22 S	15 S	28 S	12 S	29 S	31 S	22 S	29 S	27 S	17 S	26 S	30 S	18 S	26 S	26 S	25 S	30 S
3	22 S	18 S	17 S	29 S	14 S	28 S	29 S	24 S	30 S	27 S	18 S	24 S	32 S	19 S	24 S	25 S	22 S	29 S
4	19 S	18 S	18 S	26 S	11 S	30 S	30 S	18 S	28 S	25 S	15 S	25 S	30 S	20 S	23 S	23 S	24 S	28 S

Tableau XII : Résultats des tests de virulences des souches testés

Numéro de Souches	Code de référence	Test de fixation du rouge Congo	Test de la résistance aux sérums
S1	2172 bt1	+	R
S 2	2172 bt2	+	R
S 3	2172 bt3	+	R
S 4	2172 bt4	+	R
S 5	2265	-	R
S 6	2314 bt1	+	R
S 7	2341 bt1	+	R
S 8	2343 bt1	-	R
S 9	2343bt3	+	R
S 10	2343bt4	-	R
S 11	2339	-	R
S 12	2402	-	R
S 13	2406bt10	+	R
S 14	2406bt9	+	R
S 15	2456bt1	-	R
S 16	2456bt2	+	R
S 17	2456bt3	+	R
S 18	2456bt4	+	R
S 19	2484 bt1	-	R
S 20	2499	+	R
S 21	2512bt2	-	R
S 22	2523 bt1	+	R
S 23	2523 bt2	+	R
S 24	2523 bt4	+	R
S 25	2555 bt2	-	R
S 26	2590 bt2	-	R
S 27	2608 bt2	+	R
S 28	2608 bt3	+	R
S 29	2665	+	R
S 30	2686 bt1	-	R
S 31	2686 bt4	+	R

(+) : Fixation du rouge Congo. (-) Pas de fixation du colorant R : Résistance au sérum.

S : Sensibilité au sérum.

Tableau XII : (suite) : Résultats des tests de virulences des souches testés

S 32	2750 bt2	+	R
S 33	2750 bt3	+	R
S 34	2750 bt4	-	R
S 35	2763 bt1	-	R
S 36	2763 bt2	-	R
S 37	2763 bt3	-	R
S 38	2763 bt4	-	R
S 39	2770	+	R
S 40	2777 bt1	+	R
S 41	2777 bt2	+	R
S 42	2777 bt3	+	R
S 43	2777 bt4	+	R
S 44	2777 bt5	+	R
S 45	2796	-	R
S 46	2815	+	R
S 47	2857	-	R
S 48	2933	+	R
S 49	2916 bt2	+	R
S 50	3080 bt4	+	R

(+) : Fixation du rouge Congo. (-) : Pas de fixation du colorant. R : Résistance au sérum.
S : Sensibilité au sérum.

Annexe 3 : Photos

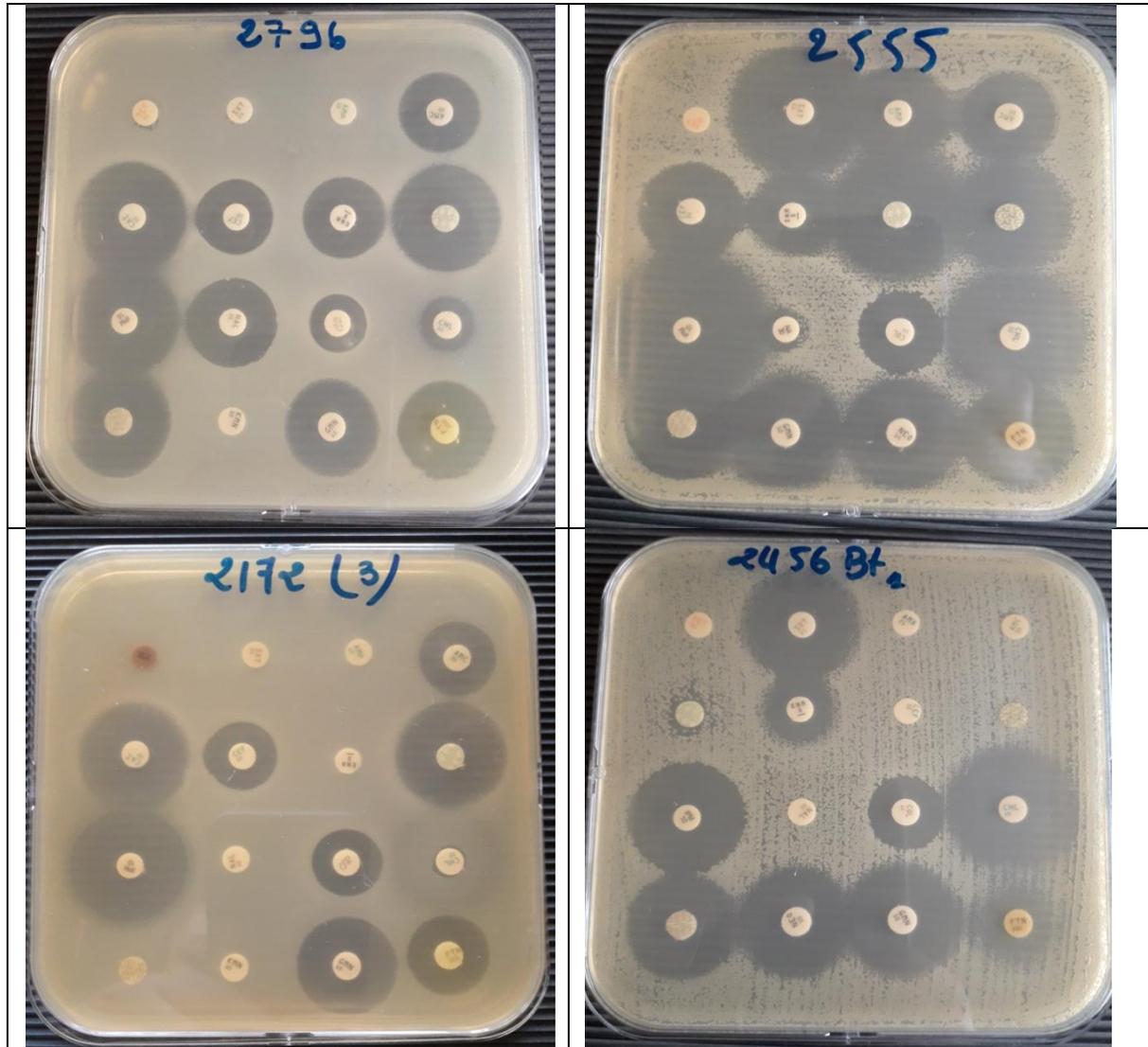


Figure 20 : Illustration des résultats de l'antibiogramme

Contrôle de qualité

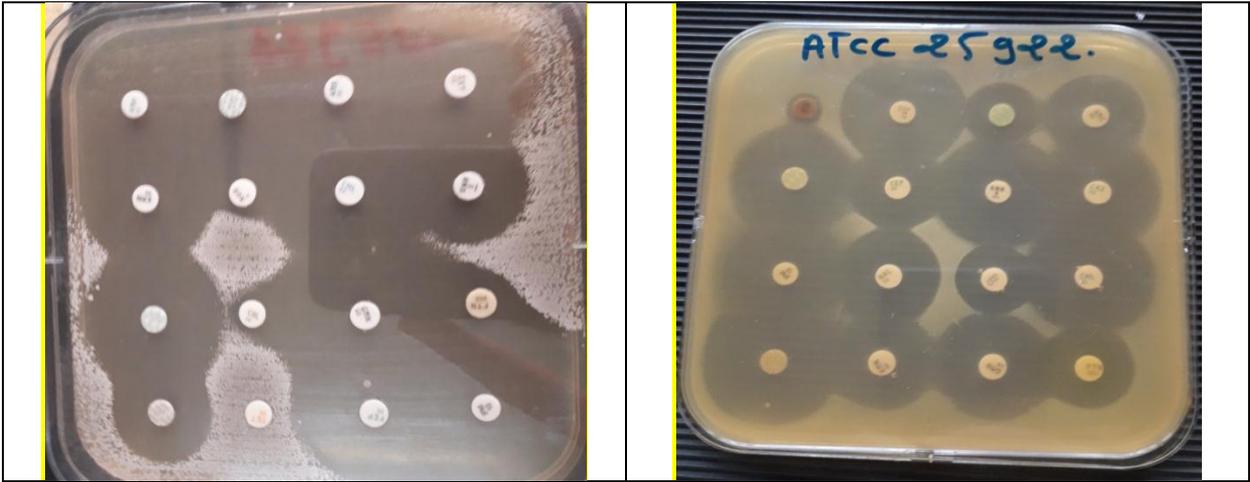
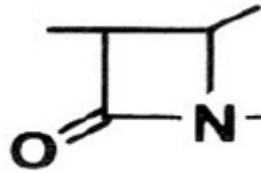


Figure 21 : Photos illustrant le résultat du contrôle de qualité.



Figure 22 : Photo des souches conservées



Cycle commun β -lactame

Figure 23 : Structure chimique du cycle β -lactame

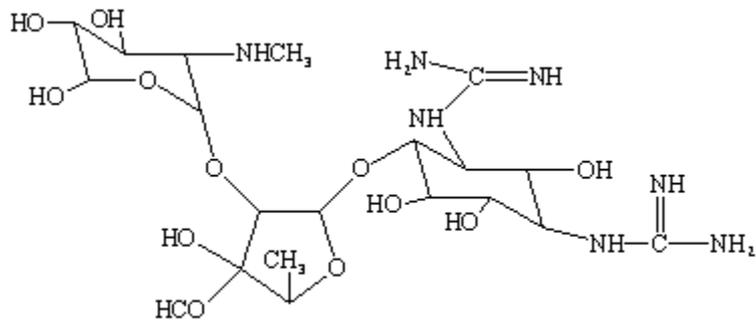


Figure 24: Structure de la streptomycine.

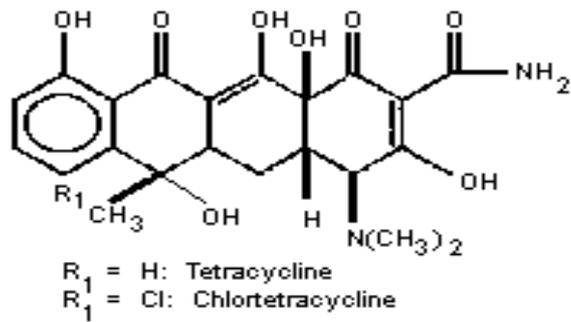
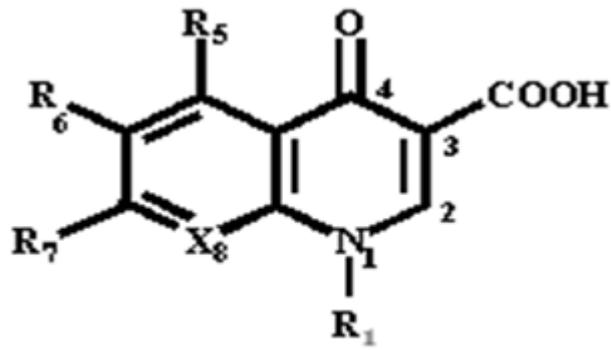


Figure 25: Structures chimique des tétracyclines et chlorotétracycline



Structure de base des quinolones

Figure 26: Structure des quinolones.

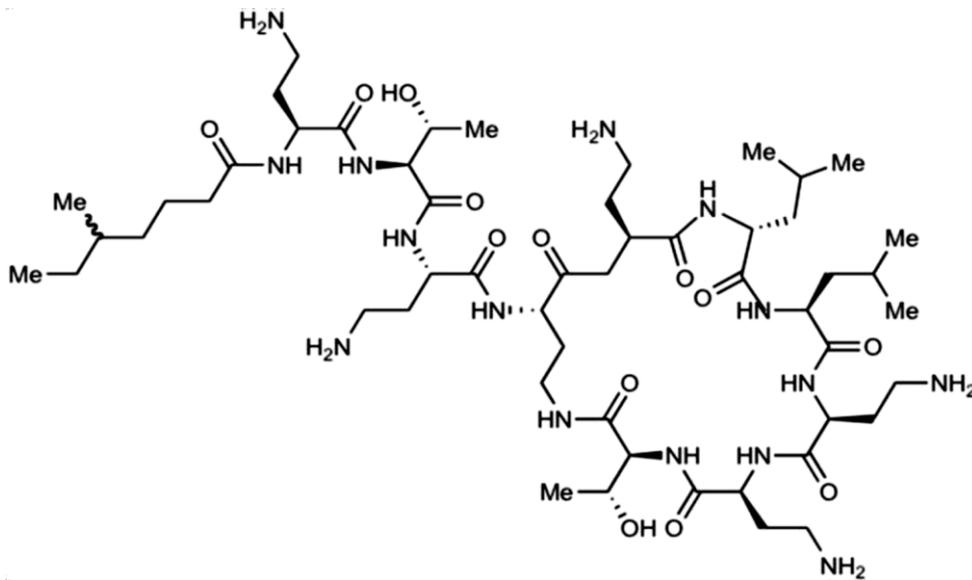
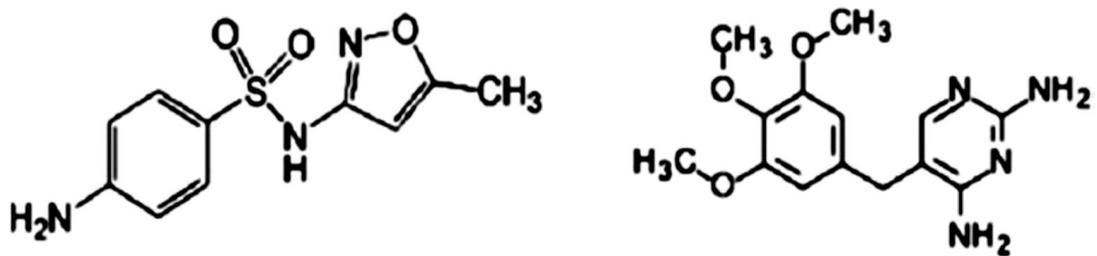


Figure 27 : Structures chimique de la colistine A (polymyxine E).



Sulfaméthoxazole

Triméthoprime

Figure 28: Structures chimique du sulfaméthoxazole et triméthoprime

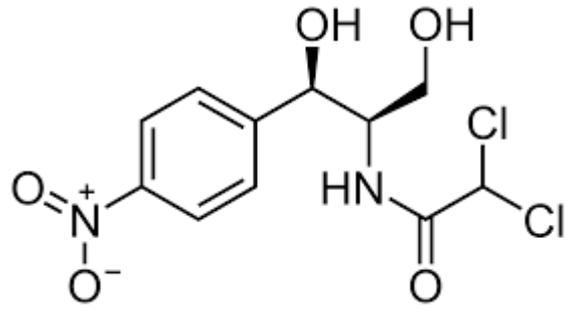


Figure 29: Structure chimique du chloramphénicol

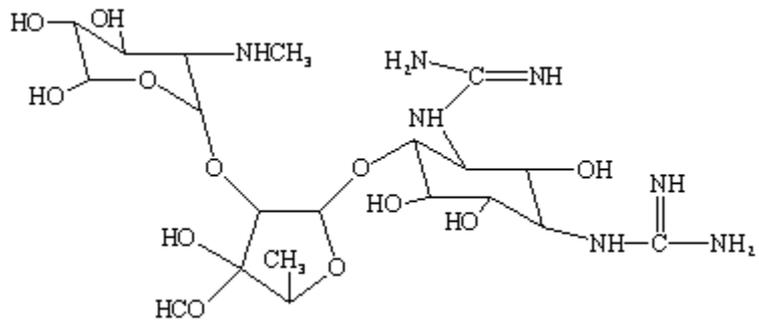


Figure 30 : Structure de la streptomycine.