الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ Dr. YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE DE MASTER

En vue de l'obtention du Diplôme de

Master en Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

THEME

Isolement et antibioresistance des souches d' *Escherichia coli* isolées chez la volaille

Présenté par

Mlle. BOUHRAOUA Noussaiba Mlle. AMRAOUI Ahlam Mlle. IRKI Souad.

Devant les jurys

Dr. MESSAI Chafik Redha	MCA	ENSV-Alger	Promoteur
Mr. RAHAL Mohamed	MCA	Université de Médéa	Co-promoteur
Dr. AINAS Mahfoud	MCB	Université de Médéa	Président
Dr. HOUCEINI Amina	MCB	Université de Médéa	Examinatrice

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu « ALLAH », le Tout puissant de m'avoir donnée la santé, et le courage pour atteindre mon objectif. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.

Nous tenons à remercier vivement Mr Messai Chafik Rida, Maitre de conférences à école nationale supérieur vétérinaire d'Alger d'avoir accepté d'encadrer ce travail, pour son aide, ses orientations et ses précieux conseils, tout au long de mon travail.

Mes vifs remerciements sont adressés aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail, Mr

Nous tenons à remercier vivement aussi Mr Chami

Université de Dr Yahia Faress Medea

Bien entendu, Nous tenons à remercier mes parents, pour leurs sacrifices et leur patience, tout au long de mes études.

Merci

À ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin Dans mon travail, je les remercie du fond du cœur.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :
A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.
A Mes chère grandes mère à qui souhaite une longue vie.

A mes Sœurs : Sihem,Zoli ,hassiba ,zineb et ses marie,Achraf , Antar ,Hocine ,Rachid , et Sarah.

A mon frères : Mohamed Amine.

A ma nièce : Asma ,Arwa ,Oumaima , yassmine et mes neveux Nadjmo, Islem,Anes

Que dieu les garde et préserve.

A mes tentes surtout et ses maries surtout Hakim et Souad

A mes cousins et mes cousines : Chaima, Maissa, Achouak, Younes,Ahmed, Mohamed Hicham.

*A Mes Oncles **et** ses femmes : Toufik, Oumran, Redha, Mouloud,et sa femme, Rehab.*

A ma trés chèr copine et ma trinôme : Irki Souad ,Amraoui Ahlam

" A toute ma famille maternelles et paternelle ."

" A tous les professeurs qui nous ont enseigné"

"A monsieur Messai "

"Pour l'orientation, la confiance, la patience durant la période de ce travail . "

A tous mes amis et mes collègues :Amira,Amina ,Kawther ,Maria , Rayhana et Amina ,Abdelmalek,Kadour , youcef , Nour ,Ikram,Radia, , et toute la Promo de MicrobiologieAppliqueé 2021.



Noussaiba

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à ….

"A ma très chère mère et mon très cher père "

Vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi .votre prière et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous mérites pour tous les sacrifices que vous n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'age adult.

" A mes très chers frères : Abderrahmane et Tahar."

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, et de réussite dans tous les domaines.

" A ma très chère sœur Amina et son épouse et ces deux petites filles Manel et Afaf"

Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de t'avoir comme sœur. Je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études, je t'estime beaucoup et je t'aime beaucoup. Je souhaite une vie plaine de joie et de bonheur et prospérité dans tous les domaines à ma sœur et son épouse et les deux princesses Loulie et foufie.

"A monsieur Messai "

"Pour l'orientation, la confiance, la patience durant la période de ce travail . "

" A toute ma famille maternelles et paternelle ."

" A tous les professeurs qui nous ont enseigné"

" A ma très chère copine intime d'enfance : Barkani Kawther "

"A ma très cher copine et ma trinôme : Bouhraoua Noussaiba, Amraoui Ahlam."

"A tous mes amis et mes collègues :Amira,Amina ,Kawther ,Maria , Rayhana et Amina , et toute la Promo de Microbiologie 2020/2021."



" IRKI SOUAD"

Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous

avoir guidé vers le droit chemin.

Je Dédie ce travail. A mes cher parents Yahia & Malika symboles de sacrifice, de

tendresse d'amour. Je vous remercie pour tout le

soutien et l'amour que vous me portez depuis



enfance et j'espère que votre bénédiction

M'accompagne toujours.

Je les garde

Je dédie également à tous ceux qui m'aiment et spécialement

A ma sœur « Wafaa »

A mes chères frères et sa femmes Ahmed, Mohamed, Billel. Et Rachid,

Masouda, Wissam et Sabah

ET Les petites poussins Youness, Amine, Loay et Quamar

A tous ma famille maternelle et paternelle.

Pour mes chéries amies : Maria, Asmaa, Imen, Hayat, Hadjer, Khadidja, Aicha, Bochra, Nadjat et tout mes amies.

A toute la promotion 2020/2021

Microbiologie appliquée.

A Mes chère trinôme IRKI Souad et BOUHRAOUA Noussaiba

Enfin, je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidé de le réaliser de près ou de loin Sans exception.

AMRAOUI Ahlam.

Résumé.

L'objectif de cette étude est d'isoler la bactérie *Escherichia coli* des poulets de chair qui présentent les lésions de la colibacillose, d'évaluer la fréquence d'antibiorésistance de ces souches vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques, et la recherche de souches BLSE.

Sur 50 prélèvements d'organes effectués, tous ont présenté une culture positive d' *E.coli* sur gélose Mc conkey et Hektoen, une identification biochimique via la galerie d'identification API 20^{E} a été ralisée confirmant la présence *d'E.coli* dans 100 % des prélèvement effectués, l'antibiogramme par la méthode de diffusion sur gélose a révélé les résultats suivantes : une très bonne réponse vis-à- vis de la Tétracycline et l'Acide Nalidixique (98%), Sulfaméthoxazole+Trimétoprime(88%) , l'ampicilline(80%),par contre les autre résultats ; enrofloxacine(66%),néomycine (44%) ; nitrofurane (28%) ;chloramphénicol(8%) ;et céfotaxamie ;gentamycine et colistine (0%).

Aucune souche n'est résistante à un antibiotique, il existe 15 souches sont résistantes à 6 antibiotiques (30 %), et 8 souches sont résistantes à 4 antibiotiques (16 %), et 4 souches sont résistantes à 8 antibiotiques (8 %). Aucune souche n'est BLSE.

En conclusion, il ressort clairement de cette étude que les antibiotiques sont de moins en moins efficaces contre les colibacilles. Il est plus que jamais nécessaire d'effectuer des tests de sensibilité aux antibiotiques avant le traitement afin de prescrire la molécule de choix.

Mots clés : colibacillose, antibiotiques, poulets de chair ,antibiorésistance, BLSE , *E. coli*.

Abstract

The objective of this study is to isolate the bacterium *Escherichia coli* from broilers with colibacillosis lesions, to assess the frequency of antibiotic resistance of these strains against 12 antibiotic molecules, and research for BLSE strains.

out of 51 samples taken, 50 presented a positive culture towards E.coli, an identification of the isolated bacteria was carried out with an API 20 20E identification gallery revealed the presence of E. coli in 98% of pathological samples, the antibiogram by the agar diffusion method revealed the following results: a very good response to Tetracycline and Nalidixic Acid (98%), Sulfamethoxazole + Trimetophrime (88%), ampicillin (80%), for against other results; enrofloxacin(66%),neomycin(44%); nitrofuran(28%);chloramphenicol(8%);and cefotataxamy ; gentamycin and colistin(0%).

No strains are antibiotic resistant , there are 15 strains resistant to 6 antibiotics (30%), and 8 strains are resistant to 4 antibiotics (16%), and 4 strains are resistant to 8 antibiotics (8%).

In conclusion, it is clear from this study that antibiotics are becoming less effective against E. coli. More than ever, antibiotic sensitivity testing is needed before treatment to prescribe the molecule of choice.

Key words: colibacillose, antibiotics, broiler chickens, antibiotic, BLSE, E. coli.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو عزل بكتريا *Escherichia coli* من الدجاج اللاحم التي تظهر آفات داء القولونيات ، لتقييم تواتر مقاومة هذه السلالات للمضادات الحيوية ضد 12 جزيء من المضادات الحيوية ، والبحث عن سلالات BLSE.

من بين 50 عينة من الأعضاء تم أخذها ، قدمت جميعها ثقافة إيجابية لبكتيريا E.coli على Hektoen agar و Mc conkey.

تم إجراء تحديد كيميائي حيوي عبر معرض تعريف API 20E.

يؤكد وجود بكتريا قولونية في 100٪ من العينات المأخوذة ، والمضاد الحيوي من خلال طريقة نشر الآجار النتائج التالية: استجابة جيدة جدا للتتراسيكلين وحمض الناليديكسيك (98٪) ، سلفاميثوكسازول + تريمتوبريم (88٪) ، أمبيسلين (80٪) ، من ناحية أخرى النتائج الأخرى. إنروفلوكساسين (66٪) ، نيومايسين (44٪) ؛ نتروفوران (28٪) ؛ كلورامفينيكول (8٪) ؛ سيفوتاكسامي ؛ جنتامايسين وكوليستين (0٪).

لا توجد سلالة مقاومة للمضادات الحيوية ، فهناك 15 سلالة تقاوم 6 مضادات حيوية (30٪) ، و 8 سلالات تقاوم 4 مضادات حيوية (16٪) ، و 4 سلالات تقاوم 8 مضادات حيوية (8٪). لا إجهاد هوBLSE

في الختام ، يتضح من هذه الدراسة أن المضادات الحيوية أقل فاعلية ضد الإشريكية القولونية. من الضروري أكثر من أي وقت مضى إجراء اختبارات حساسية للمضادات الحيوية قبل العلاج من أجل وصف الجزيء المختار.

الكلمات المفتاحية: داء العصيات القولونية ، المضادات الحيوية دجاج التسمين المقاوم لمضادات الميكروبات ، ESBL, E.Coli.

Symboles et abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ag : Antigène

AMP : Ampicilline

Antigènes H : pilus

Antigènes K : capsulaire

Antigènes O : somatique

APEC : *Escherichia coli* pathogène aviaire

Api 20 E : Api 20 Entérobactéries

ARN m : Acide ribonucléique messager.

ARN t : Acide ribonucléique de transfert.

ATB : Antibiotiques

AUG : Amoxicilline/Acide clavulanique

BHIB : Brain Heart Infusin Borth

C : Chloramphénicol

CMI : La concentration minimale d'inhibition.

CN : Gentamicine

CS : Colistine

E. coli : *Escherichia coli*

ECVF : Escherichia coli vacuolating factor

EMB: bleu d'éosine méthylène

ENSV : Ecole Nationale Supérieure vétérinaire

F : Nitrofurane

fliC : Flagellin *Escherichia coli*

GC : Guanine Cytosine

Gram - : Gram négatif

Gram+ : gram positif

H : Heure

I: Intermédiaire

Iss : *Increased gène survival*

Kb : Kilobase

kDa : Kilodalton

LPS : Lipopolysaccharide

mm : Millimètre

N : Néomycine

NH2 : groupements amines.

nm : nanomètre

OH : groupements hydroxyles.

ONPG : Ortho-Nitro-Phényl Galactoside

PLP : protéines liant les pénicillines.

QRDR: Quinolone Resistance Determining Region

R: Résistant

S: Sensible

SIGT : syndrome infectieux du gonflement de la tête

TDA: Tryptophane Désaminase

TE : Tétracycline

TraT : *Transfert T*

TSI: Triple Sugar Iron

UFC : unité formant colonie

VP: Réaction de Voges-Proskauer

β-lactamine : bêta-lactamine.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification d'Escherichia coli. **3**

Tableau 2 : Principales caractéristiques biochimiques de l'espèce *E. coli* **5**

Tableau 3 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme **38**

Tableau 4 : Application des disques d'antibiotique par boite de pétri. **40**

Tableau 5: Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *E .coli* **45**

Tableau 6: Fréquence des antibiorésistances dans notre étude et pour d'autres études en Algérie **47**

Tableau 7: Pourcentages de multirésistances des souches E.coli aux antibiotiques. **52**

Tableau 8 : les profils de résistance (Antibiotypes) isolés lors de notre étude. **54**

Liste des figures :

Figure1: Escherichia coli, coloration de Gram(G rossissement, x 100). **4**

Figure2: Escherichia coli sur milieu de Mac Conkey . **5**

Figure 03..Syndrome de la tête enflé **.** **14**

Figure 04. Salpingites colibacillaires **.** **14**

Figure 05 : Cellulite colibacillaire. Les lésions sont souvent unilatérales. **15**

Figure 06 : Structures de quelques β-lactamines. **21**

Figure 07 : prélèvements d'organes dans les pots stériles. **30**

Figure 08 : Etuis de disques imprégnés d'antibiotiques **31**

Figure 09 : Foie et coeur découpés stérilement en petits dés **34**

Figure 10 : Enrichissement des organes sur BNO **34**

Figure 11 : Aspect des colonies *E.coli* sur gélose Mac conkey **35**

Figure12 : Galerie API 20 E après incubation et ajout des réactifs **36**

Figure13 : Boiten 1 de l'antibiogramme **44**

Figure14 : Pourcentages de résistances des souches *E.coli* **46**

Figure 15 : Pourcentages des multirésistances des souches *E.coli* isolées **53**

SOMMAIRE :

PARTIE BIBLIOGRPHIQUE :

INTRODUCTION……..... 1
CHAPITRE I : BACTÉRIOLOGIE GÉNÉRALE ET INFECTIONS À *ESCHERICHIA coli* 3
1.Historique……...…..…… 3
2. Description et classification ……..... 3
3. Habitat …….. 3
4. Caractères bactériologique de l'espèce ……..……... 4
4.1. Caractères morphologiques ……..…….. 4
4.2. Caractères culturaux ……...…… 4
4.3. Caractères biochimiques……...…….. 5
4.4. Caractères antigéniques…….. 6
4.4.1. L'antigène somatique O ……..... ……. 6
4.4.2. L'antigène flagellaire H……... ……. 6
4.4.3. L'antigène d'enveloppe ou capsulaire K ……...…..…… 7
5. Pouvoir pathogène ……... ……. 7
5.1. Les adhésines……..…….…..... 7
5.1.1. Fimbriae de type 1…… 7
5.1.2. Fimbriae de type P……..…….. 8
5.1.3. Autre adhésines …… 8
5.2. Résistance au sérum et à la phagocytose ……..…..……... 8
5.3. L'aérobactine……..…... …. 9
5.4. Les toxines……..…... …. 9

6. Les infections à *E. coli* ……..…… 9
6.1. Définition ……..…… …… 9
6.2. Pathogénie …… 10
6.3. Source d'infection et mode de contamination …… 11

6.4. Symptôme généraux …….... 10

6.5. Les formes de Colibacillose…… 11
6.5.1. Forme généralisées ……. 11
6.5.1.1. Omphalite/ Inflammation du sac vitellin……..... 11
6.5.1.2. Colibacillose respiratoire…….. 12

6.5.1.3. Colisepticémie……..…….. 13
6.5.2. Formes localisées…… ……. 13
6.5.2.1. Le syndrome de la tête enflée …… ….. 13
6.5.2.2. Salpingite/péritonite/salpingopétonite colibacillaire…….. 14
6.5.2.3. Cellulite colibacillaire……..... 15
6.5.3. Formes chroniques…… ….... 15
6.5.3.1. La coligranulomatose……... 15
6.5.3.2. Arthrites et synovites…… ….... 15
6.5.3.3. Panophtalmie…… 16
6.5.3.4. Méningite……. 16
6.5.3.5 Entérite…….. 16

6.6. Diagnostic…….. 16
6.6.1. Diagnostic différentiel…….. 16
6.6.2. Diagnostic de laboratoire……. 17
6.7. Prophylaxie et contrôle de la maladie…….. 17
6.7.1. Sanitaire……..... 17
6.7.2. Médicale ……..... 18
6.8. Traitement …… 18

CHAPITRE 2 : LES ANTIBIOTIQUES ET LES ANTIBIORÉSISTANCES…… 19
1. Historique des antibiotiques……..... 19
2. Définition des antibiotiques …… 19
3. Origines des antibiotiques ……..... 19
4. Effets des antibiotiques ……. 20
4.1. Antibiotiques bactériostatique ……..... 20
4.2. Antibiotiques bactéricide……..... 20
4.2.1. Antibiotique à spectre large……. 20
4.2.2. Antibiotique à spectre étroit…… 20
4.2.3. Antibiotique à spectre moyen ou limité …… 20
5. Les principales familles de l'antibiotique …….. 20
5.1. β-Lactamines ……. 20
5.1.1. Classification des β-Lactamines ……..... 21
5.2. Aminosides ……. 21
5.3. Tétracyclines..... 22
5.4. phénicolés ……..……. 22
5.5. Quinolones /Fluoroquinolones…..……... 22
6. Mode action des antibiotiques …… 23
6.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse de peptidoglycane…….…… 23
6.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique…….. 24
6.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous unité 30S du ribosome …….. 24
6.2.1.1. Mécanisme d'action des aminosides…… 24
6.2.1.2. Mécanisme d'action de tétracyclines ……. 24
6.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 60S…….. 24
6.2.2.1. Mécanisme d'action du chloramphénicol …….. 24
6.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques……. 24

6.3.1. Mécanisme d'action des quinolones…….. 24
6.3.2. Mécanisme d'action des fluoroquinolones…….. 25

7. Antibo-résistances…… 25
7.1. Définition …… 25
7.2. Types de résistance aux antibiotiques……... 25
7.2.1. Résistance naturelle…… 25
7.2.2. Résistance acquise…….. 26
7.3. Voies de transmission des résistances aux antibiotiques(ATB)…… 26
7.3.1. Transmission verticale ……..…… 26
7.3.2. Transmission horizontale ……..... 26
7.4. Biochimie de la résistance…… 27
7.4.1. Résistance croisée…….. 27
7.4.2. Co-résistance …… 27
7.5. Voies biochimiques de la résistance aux antibiotiques……. 27
7.5.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique……. 27
7.5.2. Modification de la cible …… 27
7.5.3. Diminution de la perméabilité…… 28
7.5.4. Excrétion de l'antibiotique par efflux……... 28
7.6. Mécanismes de résistances aux d'antibiotiques……... 28
7.6.1. Mécanismes de résistance aux β-lactamines…… 28
7.6.2. Mécanismes de résistance des aminosides..... 29
7.6.3. Mécanismes de résistances de tétracyclines …….. 29
7.6.4. Mécanismes de résistances de Chloramphénicol …… 29
7.6.5. Mécanismes de résistances de quinolones ……. 29

PARTIE EXPÉRIMENTALE

MATÉRIELS ET MÉTHODES……...

I. Objectifs……..... 30

II. Lieu et période de l'étude……. 30

III. Matériel et méthodes…….. 30

III.1. Matériel…… 30

III.1.1. Echantillonnage et prélèvement…… 30

III.1.2. Milieux de culture……..... 31

III.1.3. Produits de laboratoire ……..... 31

III.2. Méthodes…… 32

III.2.1. Conduite expérimentale……..... 32

III.2.2. Autopsie……..... 33

III.2.3. Bactériologie……. 33

III.2.3.1. Isolement des *Escherichia coli*…… 34

III.2.3.1.1. Enrichissement…….. 34

III.2.3.1.2. Ensemencement……. 35

III.2.3.2. Identification des *Escherichia* coli…….. 35

III.2.3.2.1. Identification morphologique…… 35

III.2.3.2.2. Identification biochimique……. 36

III.2.3.2.3. Identification biochimique par API 20 E 36

a) Objectif…… 36

b) Principe…… 36

c) Mode opératoire…….. 36

c-1. Préaparation de la galerie…… 36

c-2. Préaparation de l'inoculum……..... 37

c-3. Inoculation de la galerie…….. 37

d) Lecture de la galerie…… 37

e) Interprétation de la galerie……..... 38

III.2.3.3 Antibiogramme…….. 38
III.2.3.3.1. Principe……...……. 39

III.2.3.3.2. Technique…… 39

a) Inoculum……..... 39

b) Encemencement…….. 39

c) Application des disques d'antibiotiques……..... 40

d) Incubation…….. 40

III.2.3.3.3. Lecture…… 40

III.2.4. Recherche de la β-lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries…... 41

III.2.4.1. Technique pour les Entérobactérie « test de synergie » …….. 41

III.2.5. Analyse statistique……..... 41

RÉSULTATS ET DISCUSSION…….

I Rappel de l'objectif ……..…… 43

II. Bactériologie…….……. 43

II.1. Isolement et identification des *E.* coli…….…..... 43

II.2. Antibiogramme……..……. 43

II.3. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques……..... 47

II.3.1. Les β-lactamines……..…… 47

II.3.2. Les Tétracyclines……..…….. 48

II.3.3. Les quinolones……..……. 49

II.3.4. Les sulfamides……..……. 50

II.3.5. Les aminosides…… 50

II.3.6. Les polypeptides……..……... 51
II.3.7. Les phénicolés…….……... 51
II.3.8. Les furanes……. 52
II.4. Les multirésistances……..……..... 52
II.5. Les antibiotypes (Les profils de résistances, Phénotypes)……. 54
CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS……...… ***55***
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES
ANNEXES

Introduction

Depuis près d'un demi-siècle, la production avicole a vécu des changements profonds. Les progrès en génétique et en nutrition ont favorisé une expansion phénoménale de cette production qui a su répondre à l'augmentation remarquable de la demande pour ces produits (Vaillancourt, 2009).

A l'instar des autres pays du monde, l'Algérie a procédé, dès les années 1970, au développement de la filière avicole, en vue de réduire rapidement le déficit en protéines animales dont, souffrait cruellement le citoyen. Les plans élaborés afin d'atteindre cet objectif ont été axés sur la production intensive des produits finis (poulet de chair et œuf de consommation) dans le but d'arriver à une production locale optimale (poussin chair et ponte d'un jour) (Fenardji, 1990 ; Ferrah, 2000).

L'intensification de la filière aviaire n'évolue pas sans problèmes. En effet, la plupart des aviculteurs ne sont pas des professionnels et ne maîtrisent pas l'application des règles d'hygiène fondamentales, favorisant ainsi l'émergence de diverses pathologies qui portent atteinte à la qualité du produit et à la rentabilité économique.

La volaille constitue l'un des principaux réservoirs des entérobactéries et se trouve par conséquent souvent incriminée dans de nombreuses toxi-infections alimentaires collectives (Cardinale *et al*., 2002). Aussi, les infections à *Escherichia coli* sont connues depuis fort longtemps dans les élevages avicoles car elles sont, les plus répandues et les plus importantes en pathologie aviaire.

Elles demeurent à ce jour un sujet d'actualité car l'intensification de la production avicole dans le monde a augmenté leur incidence et les pertes économiques pour l'industrie avicole sont considérables. Elles peuvent entrainer de la mortalité, des retards de croissance, des baisses de performances, des chutes de l'éclosabilité et d'importantes saisies au niveau des abattoirs, ajoutant à cela des frais importants en antibiothérapie (Cloud *et al.*, 1986; Hammoudi et Aggad, 2008).

Etant donné le peu de connaissance sur l'importance de la diversité des souches d'*E. coli* aviaires en matière de facteurs de virulence, aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuelle pour lutter efficacement contre la maladie, en conséquence l'antibiothérapie une fois le diagnostic établi reste le seul moyen de lutte contre la maladie.

Cette situation, a poussé les éleveurs à un usage abusif et erroné des antibiotiques dans le but d'assurer la rentabilité de leurs élevages, on occultant le fait qu'ils participent à l'émergence

de bactéries résistantes, voire multirésistantes qui peuvent entrainer de sérieux risques pour la santé humaine. Ainsi la consommation mondiale en antibiotiques chez les animaux est de 27000 tonnes dont 20% chez la volaille (5400 tonnes) (Rapport AFSSA-ANMV Sept 2009) (Bousquet- Milou, 2010).

Notre étude s'est fixée pour objectifs l'étude de l'antibiorésistance et la recherche des souches d'*E. coli* potentiellement productrices de bétalactamases à spectre étendu.

Pour ce faire, nous allons suivre un plan classique où après une synthèse bibliographique qui portera respectivement sur : *E. coli* et colibacillose dans l'espèce aviaire et les antibiotiques et antibiorésistance. Nous aborderons une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale qui concernera les différents protocoles relatifs à l'échantillonnage, l'analyse bactériologique (isolement, antibiogramme). Le dernier chapitre sera réservé, quant à lui, à l'interprétation des résultats et débouchera également sur l'ouverture des discussions et sera conclu par la proposition de recommandations.

Partie Bibliographique

Chapitre 1 : *Escherichia coli* et colibacillose

1. Historique

- En 1885, *E. coli* a été décrite par le pédiatre allemand Theodor Escherich (1857-1911) dans les excréments d'un enfant souffrant de diarrhée et il l'a nommé Bacterium coli commune **(Mainil, 2013).**
- Le vétérinaire Danish a supposé en 1893, que cette espèce comprend différentes souches, certaines étant pathogènes, d'autres non pathogènes **(Mainil, 2013).**
- En 1919, Castellani et Chalmers ont donné un nom définitif à cette bactérie qui est *Escherichia coli* en hommage à Escherich **(Mainil, 2013).**
- Dans les années 40, Kauffmann a développé le sérotypage d'*E. coli*. Il a mis en évidence la présence des antigènes de surface somatiques (antigènes O), antigènes capsulaires (antigènes K) et antigènes flagellaires (antigènes H). Certains sérotypes sont en effet associés à des syndromes cliniques spécifiques **(Mainil, 2013).**
- Depuis 1960, plusieurs propriétés spécifiques qui différencient les souches d'*E. coli* pathogènes des souches non pathogènes ont été développées **(Mainil, 2013).**

2. Description et classification d'*E. Coli*

Il s'agit d'une bactérie Gram-négatif non sporulée faisant partie de la famille des Enterobacteriaceae (tableau 1). Elle a été caractérisée sur les plans : phénotypique, biochimique et physiologique. Aujourd'hui, ce sont des techniques basées sur l'utilisation de l'ADN qui permettent une étude génétique des populations et la caractérisation des différentes souches d'*E.coli* **(Boulhbal, 2009).**

Tableau 01: Classification d'*E. coli* **(Boulhbal, 2009).**

Règne	Procaryotae
Domaine	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	*Escherichia*
Espèce	*Escherichia coli*

3. Habitat

E. coli est une bactérie commune de la microflore commensale intestinale de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). Elle colonise de manière asymptomatique le tractus digestif de l'homme dans les premières heures qui suivent la naissance et constitue dès lors

l'espèce bactérienne dominante de la flore anaérobie facultative du colon humain. Sa niche écologique se trouve dans la couche de mucus secrétée par l'épithélium du colon où elle assure, avec les autres composants de la microflore, une barrière de protection de la muqueuse **(Pantel, 2015)**.

La concentration en *E. coli* par gramme de selles varie d'un individu à un autre de 10^7à 10^9 unités formant des colonies (UFC). Elle est plus faible chez les autres mammifères. *E. coli* peut transiter dans l'eau et les sédiments. Il est utilisé comme un indicateur de la contamination fécale de l'eau. On estime que la moitié de la population totale des *E. coli* réside au niveau de ces habitats secondaires environnementaux, au sein desquels certaines souches peuvent être sélectionnées et disséminer naturellement. *E. coli*, et plus largement les coliformes thermo-tolérants, sont également recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale **(Pantel, 2015).**

4. Caractères bactériologiques de l'espèce

4.1. Caractères morphologiques

Bacille à bout arrondi, mesurant approximativement 2 à 4µm de longueur sur 0.6 µm de larguer, ne possédant ni capsule ni spores, il se présente isolé ou en courtes chaînettes, et en quelques cas, sous forme de très long filaments. Pourvu de cils, *E. coli* est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité est très variable selon le milieu où la souche a été ensemencée **(Bey, 2009).** La figure 1 représente une observation microscopique de coloration de Gram d'*E. coli***.**

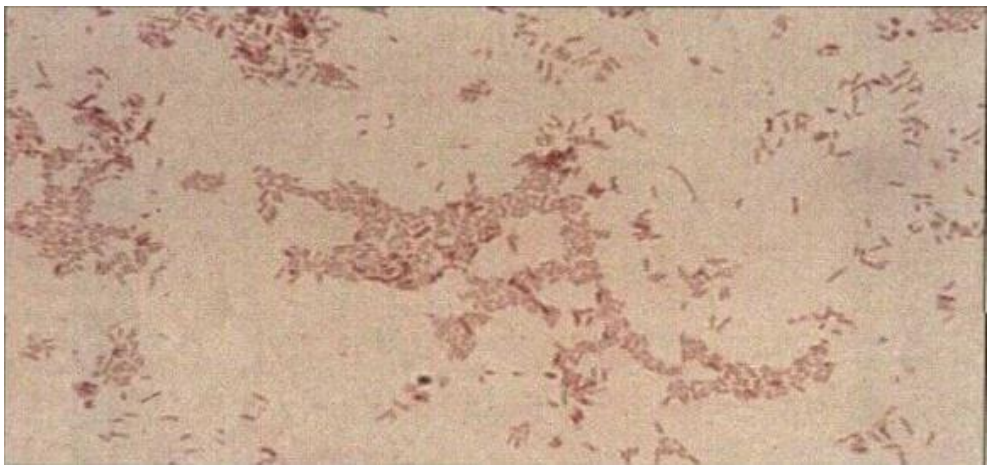


Figure 01: *E.coli,* coloration de Gram (Grossissement x 100) **(Hart et Shears, 1999).**

4.2. Caractères culturaux

Elle se développe en 24 heures à 37 °C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur gélose au sang, les colonies d'*E. coli* sont lisses, gris terne, et de 2 à 3 mm de diamètre. Sur milieu Mac Conkey, les colonies d'*E coli* sont lactose-positives, de couleur rose à rouge, plates, sèches et de 2 à 3 mm de diamètre. Elles sont généralement entourées d'une zone rose plus foncée des sels biliaires précipités. Les souches d'*E.*

coli lactose-négatives produisent des colonies incolores sur Mac qui sont de 2 à 3 mm de diamètre **(Haouzi, 2013 ; Hart et Shears, 1999 ; Benabdallah-Khodja et Hamlaoui, 2016).**

La figure 2 représente une culture d'*E. coli* lactose-positive sur milieu Mac Conkey.

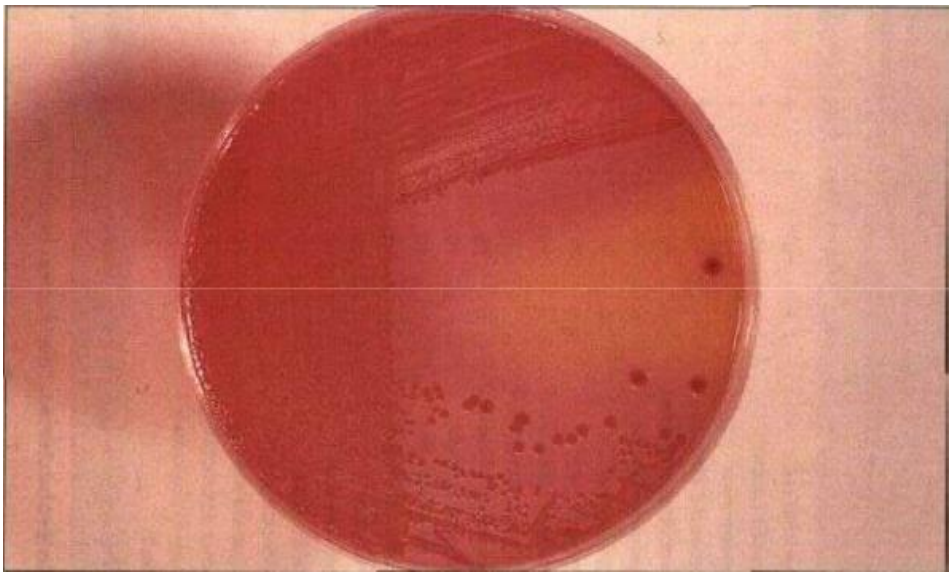


Figure 02: *E. coli* sur milieu de Mac Conkey **(Hart et Shears, 1999).**

4.3. Caractères biochimiques

Les tests biochimiques les plus communément utilisés dans l'identifications sont : le type de fermentation, l'utilisation du lactose et du citrate, la production d'indole à partir de tryptophane, l'hydrolyse de l'urée et la production de sulfure d'hydrogène **(Haouzi, 2013).** Le tableau ci-après représente les principales caractéristiques de l'espèce *E. coli.*

Tableau 2 : Principales caractéristiques biochimiques de l'espèce *E. coli* **(Haouzi, 2013).**

Caractéristiques	***Escherichia coli***
ONPG	+
Oxydase	-
Rouge de méthyle	+
Voges –Proskauer	-
Production d'indole	(généralement présent)
Utilisation du citrate	-
Production de H2S	-

Uréase	-
β-galactosidase	(généralement présent)
Gaz à partir de glucose	+
Acide à partir de lactose	+
Phénylalanine désaminase	-
Lysine décarboxylase	(généralement présent)
Ornithine décarboxylase	(généralement présent)
Mobilité	Péritriches si mobiles
Liquéfaction de la gélatine (22°C)	-
% de GC	48-59

-: Caractère négatif + : Caractère positif

4.4. Caractères antigéniques

L'étude de la structure antigénique est très utile car certains sérotypes ont un pouvoir pathogène particulier. Kaufman a distingué trois variétés d'antigènes O, H, K **(Dembel, 2006) :**

4.4.1. Antigènes somatiques O

Les antigènes somatiques sont composés de plus de 150 de lipo-polysaccharides complexes. Actuellement certains laboratoires d'analyses médicales utilisent l'agglutination avec des sérums pour déterminer le sérogroupe, mais cette technique est limitée par le nombre de plus en plus élevé de sérums à fabriquer, par la présence d'agglutination croisée entre les antigènes O d'*E. coli, Shigella* et ceux de *Salmonella*, et par le passage de la consistance crémeuse de la colonie à une consistance rugueuse ayant pour conséquence l'absence de synthèse de l'antigène O **(Surveillane, 1997).**

4.4.2. Antigènes flagellaires H

Chez *E. coli*, les flagelles sont constitués de trois parties : un corpuscule basal, un crochet et un filament hélicoïdal formé d'un assemblage de flagelline. Plus de 40 gènes répartis principalement dans 4 clusters sont impliqués dans la formation et le fonctionnement du flagelle. La flagelline, immunogène et constituant l'antigène H est généralement codée par le gène *fliC*. Chez *E. coli*, les parties N-terminale et C-terminale de la flagelline sont conservées, tandis que la partie centrale, exposée à l'environnement, est hautement variable. Cette diversité proviendrait des transferts horizontaux et des recombinaisons d'ADN étranger qui généreraient de nouveaux allèles de *fliC* et ainsi de la diversité antigénique. Les souches d'*E. coli* caractérisées par l'incapacité de synthétiser un flagelle fonctionnel sont classées comme non-mobiles (NM ou H-) **(Miszczycha, 2013).**

4.4.3. L'antigène de surface ou d'enveloppe K

Il existe 3 types d'antigènes K désignés par les lettres L, A ou B **(Posl et *al*., 1998) :**

✓ **L'antigène L** est le plus fréquent mais est thermolabile (il est détruit en une demi –heure à 100C°), donc le chauffage provoque une perte du pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O ;

✓ **L'antigène A** est rare, c'est un antigène capsulaire (les *E. coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'Ag. A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire) ;

✓ **L'antigène B** est toujours présent chez les *E. coli* entéropathogènes de gastro-entérite infantile. Il a une thermolabilité intermédiaire : après une demi-heure à100C°il reste toujours de l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par «trouage» de l'enveloppe, la fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage).

5. Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène d`*E. coli* (APEC) est à déterminisme plurifactoriel. Les mécanismes et les modalités d'action des souches pathogènes de colibacilles aviaires sont imparfaitement connus ; c'est ainsi qu`il existe un certain nombre de facteurs de virulence qui sont associés au APEC. Ces facteurs regroupent les adhésines ou fimbriae (impliquées dans l'adhérence des bactéries au tractus respiratoire), la résistance à l'activité bactéricide du complément ou résistance au sérum (nécessaire à la survie des bactéries dans le sang), les systèmes de captation du fer (aérobactine) (utiles à la multiplication des bactéries dans le sang), les toxines, l'antigène K, le curli et le système hémagglutinant **(Stordeur et Mainil, 2002)**.

5.1. Adhésines

Le pouvoir pathogène des colibacilles est lié à la capacité d'adhérence aux muqueuse respiratoires par des pili codés par un plasmide **(Villate, 2001 ; Robineau et Moalic, 2010).**

5.1.1 Fimbriae de type 1

Ce sont de longues protéines filamenteuses de 7nm de diamètre et de 0,1 à 2 µm de long. Elles sont composées principalement d'un seul polypeptide répété arrangé sous forme d'hélice pour former hollowfibre. Les fimbriae de type 1 sont constitués d'une protéine majeure fimA, associée à d'autres protéines auxiliaires (fimF et fimG) et d'une adhésine fimH, celles-ci sont codées par un ensemble comprenant 9 gènes dont 7 sont présents sur un même opéron **(Stordeur et Mainil, 2002)**.

Les fimbriae de type 1 sont principalement exprimés par les bactéries qui colonisent la trachée, les poumons et les sacs aériens, mais pas par celles qui colonisent les tissus plus profonds du sang car elles sont rapidement tuées par les macrophages **(Dozois et *al*., 1994 ; Pourbakhsh et *al*., 1997).**
Plusieurs variantes de fimbriae de type 1 existent chez les APEC et semblent associés aux sérotypes des souches pathogènes **(Martinez et *al*., 2000).**

5.1.2 Fimbriae de type P

Les fimbriae de type P ou F11 ont été d'abord découverts chez des souches d'*E.coli* associées à des infections du tractus urinaire supérieur chez l'homme. On les retrouve occasionnellement dans les isolats urinaires des canins, chez les porcs septicémiques et en minorité chez les APEC **(Vidotto et *al*., 1990).**
La présence des fimbriae de type P est significativement plus fréquente chez les souches isolées de poulets septicémiques que chez les souches isolées de poulets sains **(Dozois et *al*., 1992).**
Ils sont exprimés par les bactéries qui colonisent les sacs aériens, poumons et organes internes mais ne sont pas exprimés par celles qui colonisent la trachée, suggérant que cette adhésion pourrait jouer un rôle plus tardif dans le processus infectieux **(Dozois et *al*., 1995).**

5.1.3 Autres adhésines

Des études sur une collection de 1.600 souches d'*E. coli* aviaires isolées d'animaux morts de colibacillose, par hybridation des colonies mettent en évidence que des adhésines F17 et Alfa-8 présentes chez d'autres espèces animales comme le bovin ou le mouton **(Pohl et Mainil, 1995 ; Mainil et *al*., 1997; Le Bouguenec et *al*., 1999 ; Lalioui et *al*., 1999; Gérardin et *al*., 2000 ; Mainil et *al*., 2000**), et jusqu'alors non décrites chez la volaille, sont également présentes chez celle-ci **(Stordeur et al., 2002).**

5.2. Résistance au sérum (pouvoir bactéricide du complément) et à la phagocytose

La résistance au sérum et à la phagocytose est bien élucidée pour jouer un rôle important dans la virulence et le développement de la septicémie **(Vidotto et *al*., 1990; Nolan et *al*., 1992, ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999)**.

Les gènes *TraT* et *Iss* codent pour les protéines de la membrane externe, et leur rôle dans la résistance au sérum est confirmée par mutagenèse **(Sukupolvi et *al*., 1987; Wooley et *al*., 1993)**. Le gène *Iss* est fréquemment plus présent dans les isolats d'oiseaux atteints de colibacillose que dans les

isolats fécaux d'oiseaux sains **(Pfaff-McDonough et *al*., 2000; Nolan et *al*., 2003 ; McPeake et *al*., 2005 ; Rodriguez-Siek et *al*., 2005).**

La protéine TraT agit comme un inhibiteur de la phagocytose en entravant la déposition du C3 **(Agüero et *al*., 1984) ,**en plus de TraT et Iss, une protéine de 162 kDa, connue pour servir de médiateur de la résistance au complément, à été identifiée **(Nolan et *al*., 1992b)**.

Des études récentes ont confirmé le rôle de la capsule K1 et des fimbriae F1 et P aussi bien que les lipopolysaccharides O1, O2, et 078dans la résistance aux effets du sérum et à la phagocytose **(Pourbakhsh et *al*., 1997 ; Mellata et *al*., 2003).**

5.3. Aérobactine

Ce système, dont l'opéron est situé sur un grand plasmide (80 Kb), fonctionne in vivo et son rôle principal serait de permettre aux bactéries de se multiplier dans le sang ou les organes autres que l'intestin **(Vidotto et *al*., 1991 ; Wooley et *al*., 2000).**

L'acquisition du fer est importante dans la virulence des souches APEC. Cela est illustré par la présence des gènes codant pour quatre systèmes d'acquisition du fer (aérobactine, Sit ABC, salmocheline, et Tsh) dans le plasmide de la virulence de la souche O78K80APEC-1 **(Johnsonet *al*., 2006; Mellata et *al*., 2009).**

Récemment, des gènes ont été dressés sur la carte génomique à une région conservée de 93 Kb, dont l'opéron est situé sur le plasmide ColV, PAPEC-O2-ColV (**Johnson et *al*., 2006).** La transformation des souches aviaires d'*E. coli* commensales par ce plasmide induit l'augmentation significative du pouvoir létal des souches sur les embryons de poulet et l'aptitude à coloniser les reins des espèces murines **(Skyberg et *al*., 2006).**

La forte corrélation entre la production de l'aérobactine et la virulence des souches APEC a permis le développement d'un test de diagnostic basé sur la détection immunologique de la proteine IutA qui est le récepteur membranaire du complexe aérobactine-fer **(Dho-moulin and Fairbrother, 1999) .**

5.4. Toxines

En plus de l'endotoxine structurale de la paroi bactérienne (LPS), les souches APEC sont capables de produire le "*Escherichia coli* vacuolating factor" ou ECVF. Cette toxine ressemble à la toxine VacA produite par *Helicobacter pylori*. ECVF est décrite chez une trentaine de souches d'*E. coli* aviaires dont 14 réputées pathogènes **(Salvadori et *al*., 2001),** codée par l'îlot de pathogenicité appelé VAT-PAI, elle contribue à la virulence des APEC **(Parreira et Gyles, 2003)**.

D'autres types de toxines sont rapportées chez les souches APEC, mais avec des rôles obscurs dans la pathogénie, incluant l'entérohémolysine, CNF1 (cytotoxicnecrotizing factor 1), CDT (cytolethal distending toxin) **(Blanco et *al*., 1997),** VT2y, semblable à la toxine VT2v associée à la maladie de l'œdème du porcelet, et présente chez 72% des souches associées à la forme "Swollenhead disease" **(Katwa et *al*., 1992; Parreira et *al*., 1998; Parreira et Yano, 1998).** Des séquences du gène codant pour la shigatoxine ont été détectées chez APEC par PCR mais l'évidence de leur expression est limitée **(Parreira et Gyles, 2002).**

6. Infections à *E. coli* « colibacillose »

6.1. Définition

Les colibacilloses aviaires sont dues à des souches d'*E. coli* qui affectent les oiseaux domestiques et sauvages. Elles sont sans doute les infections bactériennes les plus fréquentes et les plus importantes en pathologie aviaire. Les *E. coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la plupart des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre d'entre elles appelées "Avian Pathogenic *E. coli*" ou APEC et appartenant à des sérotypes bien particuliers sont associées aux colibacilloses dont les manifestations cliniques et les lésions peuvent être variables suivant l'âge de l'animal et le sérotype. Elles peuvent entrainer de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir. Contrairement aux infections des mammifères, les colibacilloses aviaires prennent des formes générales, avec une voie d'entrée respiratoire ou génitale. La plupart des colibacilloses sont des surinfections, à la suite d'infections virales ou bactériennes notamment les mycoplasmes respiratoires **(Stordeur et Mainil, 2002).**

6.2. Pathogénie

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* excrétés du tractus digestif d'animaux sains, qui constituent une source importante de contamination en élevage **(Gyles et Fairbrother, 2010).**

Après une première multiplication au niveau du tractus respiratoire supérieur, les bactéries colonisent les voies respiratoires profondes, à savoir les sacs aériens et les poumons, dans une troisième étape, la bactérie atteint le sang et colonise les organes internes comme le cœur, le foie et la rate **(Jordan et Pattison, 1996).**

La susceptibilité des oiseaux à l'infection par les APEC est augmentée par la déciliation des cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur après exposition au gaz ammoniac et à la poussière dans l'environnement des oiseaux. L'infection du tractus respiratoire du poulet par les APEC se traduit par une dépression et de la fièvre chez les sujets âgés de 4 à 9 semaines et une mortalité supérieure à 20% **(Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).**

Les APEC peuvent infecter l'oviducte à partir du sac aérien abdominal gauche, provoquant une salpingite et perte de la capacité d'ovulation, et peut envahir sporadiquement le péritoine via l'oviducte, en provoquant une péritonite et la mort **(Barnes et *al*., 2003).**

6.3. Source d'infection et mode de contamination

Les sources de contamination sont les malades, les porteur sains, la litière souillée, les coquilles des œufs souillés. Le plus important réservoir des *E. coli* aviaires est le tractus digestif de l'animal dont 10% à 15% de la population colibacillaire appartiennent à des sérotypes potentiellement pathogènes**.** Le mode de transmission de la maladie est le plus souvent horizontal et se fait principalement par inhalation de particules de poussières (litières, déjections) infectées. L'ingestion d'eau contaminée peut aussi être responsable de contamination **(Ledoux, 2003).**

6.4. Symptômes généraux

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

6.5. Les Formes de colibacillose

Il existe plusieurs formes de colibacillose : des formes généralisées, des formes localisées (septicémiques) et des formes chroniques **(Barnes *et al.*, 2003)**.

6.5.1. Formes généralisées

6.5.1.1. Omphalite / inflammation du sac vitellin

L'inflammation de l'ombilic (omphalite) des poussins venant d'éclore conduit souvent à une infection concomitante du sac vitellin adjacent (infection du sac vitellin). Le manque d'hygiène dans l'éclosoir et la contamination de la coquille sont d'importantes sources d'infection. De faibles nombres d'*E. coli* peuvent être souvent isolés à partir de sacs vitellins normaux, de temps en temps, une plus grande contamination se produit in ovo quand les poules sont atteintes d'une oophorite ou d'une salpingite. La translocation des bactéries de l'intestin de l'oiseau ou de la circulation sanguine peut également conduire à l'infection du sac vitellin **(Abdul-Aziz, 2013)**.

Si la souche d'*E. coli* n'est pas très virulent, les embryons et les jeunes poussins peuvent vivre, mais certains présenteront une rétention du sac vitellin. Cependant, l'infection du sac vitellin peut entraîner la mort de l'embryon et, avec certaines souches très virulentes, comme le sérotype O1a:K1:H7, tous les embryons exposés comme les poussins nouvellement éclos ne survivent pas **(Abdul-Aziz, 2013).**

Les oiseaux nouvellement éclos infectés survivants seront une source de colibacilles pour les autres poussins du couvoir. Si l'environnement de l'éclosoir est trop sec, on peut observer une incidence élevée d'omphalites et d'infections du sac vitellin, surtout au cours de la première semaine de vie. Un sac vitellin infecté n'est pas absorbé; par conséquent, il est distendu, souvent malodorant, de couleur et de consistance anormales (liquide, floconneux, coagulé) **(Abdul-Aziz, 2013).**

6.5.1.2.. Colibacillose respiratoire

C'est une pathologie importante dans les élevages industriels de poulets de chair. Les pertes sont plus souvent d'ordre économique avec un taux de mortalité pouvant atteindre dans certains cas 30 à 50 % et un taux de morbidité pouvant dépasser les 50%, une réduction significative de la croissance des animaux, une augmentation du coefficient alimentaire et des saisies au niveau des abattoirs **(Yogaratnam, 1995 ; El Fadil et *al.*, 1996).** Elle est essentiellement présente chez les animaux de 2 à 12 semaines, avec une fréquence supérieure entre 4 et 9 semaines **(Gross, 1994 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999)**.

La contamination se fait par voie respiratoire et est secondaire à une infection à mycoplasmes (*Mycoplasma gallisepticum*), à une virose à tropisme respiratoire (bronchite infectieuse) ou immunosuppressive (maladie de Gumboro), à un accident de vaccination ou à une concentration trop élevée en agents irritants dans l'air (poussière ou ammoniac) **(Nakamura et *al.*, 1992 ; Gyles et Fairbrother, 2010).**

Sur le plan clinique :

Les animaux malades sont indolents et anorexiques « chute importante de la consommation alimentaire ». Ils présentent les signes respiratoires suivants :

- Bec ouvert, respiration accélérée et irrégulière;
- Toux, éternuement, jetage;
- Larmoiement, sinusite;
- Abattement accompagné d'hyper thermie (42 à 44c°).

Sur le plan lésionnel

Les organes les plus touchés sont les sacs aériens, le foie, le cœur et la cavité abdominale (péritonite).

- **Les sacs aériens (Aérosacculite) :** les sacs aériens s'opacifient, s'épaississent et présentent un aspect congestif.
- **Le coeur (Péricardite) :** le cœur prend un aspect opaque et œdémateux et se remplit d'un exsudat fibrineux.

6.5.1.3. Coli-septicémie

La coli-septicémie est la forme septicémique de la colibacillose provoquée par l'invasion colibacillaire des jeunes oiseaux **(Villate, 2001).** Elle est caractérisée par la présence *d'E. coli* dans le courant sanguin. La virulence de la souche et l'efficacité des moyens de défense de l'hôte détermine la durée, le degré et l'issue de la maladie, ainsi que le type et la sévérité des lésions **(Pourbakhsh et *al*. 1997).**

Sur le plan clinique

Elle se traduit par des mortalités, après abattement, anorexie, due souvent à une complication de la colibacillose respiratoire, omphalite ou synovite **(Villate, 2001; Guérin et Boissieu, 2008).**

Sur le plan lésionnel

- **Foie :** hypertrophie, de coloration intense, parfois verdâtre, avec quelques zones de dégénérescence.
- **Rate :** hypertrophie avec des points de nécrose.
- **Reins :** néphrite, dépôt d'urates.
- **Intestin :** ampoule cloacale distendue par des gaz et des matières liquides blanchâtres.
- **Légère ascite :** aspect brillant des viscères par le liquide abdominal inflammatoire **(Villate, 2001; Guérin et Boissieu, 2007).**

6.5.2. Formes localisées

6.5.2.1. Syndrome de la tête enflée

Il s'agit d'une forme de cellulite aiguë à subaiguë assez rare affectant les tissus sous-cutanés de la région périorbitaire, donnant un aspect gonflé à la face des poulets, des dindes et des pintades (figure 3). Elle résulte généralement d'une infection des voies respiratoires supérieures d'origine virale (par exemple, le virus de la bronchite infectieuse) et elle est plus sévère dans les troupeaux exposés à des taux élevés d'ammoniac dans l'air **(Anonyme, 2008).**



Figure 3 :.Syndrome de la tête enflé **(Barnes, 1994).**

6.5.2.2. Salpingite/ péritonite/ salpingopéritonite colibacillaires

Les infections de l'oviducte (figure 4) s'étendant au péritoine représentent des causes fréquentes de mortalité sporadique et d'une diminution de la production des œufs chez les poules pondeuses, chez les dindes ou poules reproductrices (dindes et poules) ainsi que chez les canes et les oies femelles (**Gross, 1994).**

Une masse ou des masses fermes d'un exsudat caséeux sont retrouvées dans l'oviducte, obstruant et distendant fortement cet organe, une inflammation généralisée et une exsudation des surfaces péritonéales sont observées dans la péritonite colibacillaire (**Gross, 1994).**

En revanche, la péritonite liée à une ponte abdominale est habituellement caractérisée par une légère inflammation diffuse liée à la présence de l'ovule libre dans la cavité abdominale (**Jordan et Pattison, 1996).**

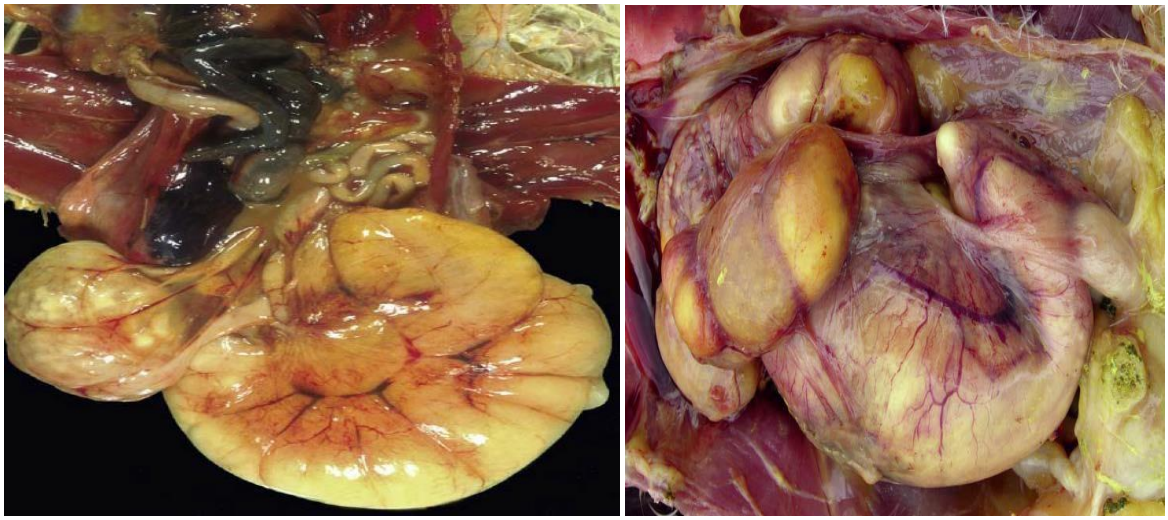


Figure 4 : Salpingites colibacillaires **(Barnes, 1994).**

6.5.2.3. Cellulite colibacillaire

La cellulite colibacillaire, principalement observée chez le poulet, se traduit par la formation de plaques caractérisées par un exsudat sérosanguin à caséeux dans les tissus sous-cutanés le plus souvent situés sur l'abdomen ou entre les cuisses et la ligne médiane (figure 5) **(Gross, 1994).**

Cette maladie est apparue au milieu des années 80 provoquant une augmentation des saisies et un déclassement à l'abattoir. Bien que d'autres bactéries puissent être présentes, dans plus de 90% des cas, *E. coli* est isolé en culture pure. Les souches d'*E. coli* causant la cellulite colibacillaire sont du mêmes sérogroupe que ceux trouvés dans les autres formes de colibacillose **(Wallingford, 1994).**



Figure 5 : Cellulite colibacillaire (Lésions souvent unilatérales) **(Barnes, 1994).**

6.5.3. Formes chroniques

6.5.3.1. Coligranulomatose

Appelée également « maladie de Hjarre », elle est retrouvée à l'âge adulte et associée à des mortalités sporadiques. C'est une affection du tube digestif peu fréquente, néanmoins le taux de mortalité avoisine les 75 % **(Stordeur et *al.*, 2003).**

6.5.3.2. Arthrites et synovites

Les *E. coli* ont été isolés à partir d'articulations de poulets. Ils peuvent surinfecter des maladies primitives (arthrite à rétrovirus, synovite à *Mycoplasma synoviae)* ou être inoculés par des blessures ou traumatismes **(Gross, 1991 ; Villate ; 2001).** Ces infections sont le plus souvent le témoin d'une colisepticémie, car d'une part ; les oiseaux semblent ne pas pouvoir éliminer complètement la maladie, permettant ainsi la localisation d'*E. coli* dans les articulations et les synoviales, et d'autre part les

vaisseaux chez les oiseaux servent de conduit assurant le processus de propagation bactérienne dans les tissus mous environnants **(Barnes et *al.*, 2003 ; Huff et *al.*, 2000).**

6.5.3.3. Panophtalmie

L'implication de l'œil est assez rare. Cependant, si ce dernier est infecté, la panophtalmie sera toujours sévère. La plupart des oiseaux meurent peu de temps après le début des lésions. C'est une infection qui se manifeste le plus souvent unilatéralement **(Pakpinyo et *al.*, 2002).**

6.5.3.4. Méningite

C'est une forme assez rare, caractérisée par une affection des méninges qui peut être associée à une affection du cerveau (encéphalite) ou des ventricules. **(Pakpinyo *et al.*, 2002).**

6.5.3.5. Entérite

E. coli a été isolé chez des volailles lors d'entérites, mais les recherches ne sont pas suffisantes pour indiquer qu'il s'agit de l'étiologie. Les poulets atteints présentent une diarrhée, différents degrés de déshydratation et une dégradation rapide de l'état général **(Pakpinyo et *al.*, 2002).**

6.6. Diagnostic

Le diagnostic de la colibacillose aviaire repose d'abord sur les tableaux cliniques et la présence de lésions telles que l'aérosaculite, parfois accompagnée de périhépatite et de péricardite. Il faut cependant garder à l'esprit que ces lésions peuvent aussi être engendrées par d'autres agents pathogènes **(Gross, 1994).**

6.6.1. Diagnostic différentiel

Plusieurs bactéries causent des lésions similaires à celles observées dans la coli-septicémie. Il est important de garder à l'esprit que *E. coli* peut également être aussi présent en même temps que les agents pathogènes énumérés ci-dessous:

Septicémie aiguë: Pasteurella, Ornithobacterium, Riemerella, Salmonella,Streptococcus, Staphylococcus, Pseudomonas, … etc. **(Gross, 1994) ;**

Péricardite et péritonite: Chlamydia (rare), Pasteurella multocida, Streptococcus spp. Et enterococcus spp. Chez les canards, Riemerella anatipestifer peut également provoquer une aérosacculite **(Dho-Moulin et Fairbrother, 1999);**

Aérosacculites: Pasteurella, Mycoplasma spp.et Chlamydia **(Dho-Moulin et Fairbrother, 1999);**

Infection du sac vitellin: Espèces des genres aerobacter, Klebsiella, Proteus, Salmonella, Bacillus, Staphylococcus, Enterococcus, clostridium, … etc. **(Dho-Moulin et Fairbrother, 1999) ;**

Granulomes hépatiques: Bactéries anaérobies des genres Eubacterium et Bacteroides**(Gross, 1994).**

6.6.2. Diagnostic de laboratoire

En présence de lésions évoquant la colibacillose, un isolement et une identification de l'agent responsable permettront de confirmer la maladie sont obligatoires. Les prélèvements sont ensemencés en milieux appropriés (bleu d'éosine méthylène ou EMB, Mac Conkey agar ou Drigalski agar) et un diagnostic présomptif d'infection par *E. coli* peut être fait si la plupart des colonies apparaissent sombres, avec des reflets métalliques, sur gélose EMB, ou rose vif, avec un précipité, sur gélose Mac Conkey. Les colibacilles sont ensuite mis en évidence par croissance sur galerie biochimique miniaturisée qui donne les caractéristiques biochimiques de l'agent isolé **(Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).**

6.7. Prophylaxie

6.7.1. Prophylaxie sanitaire

Elle vise à lutter contre toutes les sources de contamination environnementale, les vecteurs animés ou inanimés, les facteurs favorisants, ainsi qu'exiger un respect rigoureux des règles de biosécurité **(Guérin et *al.*, 2011).**

L'hygiène du ramassage, de la collecte, du transport, de l'incubation et de l'éclosion des œufs est incontournable, ainsi que la désinfection très précoce des œufs est indispensable **(Guérin et *al.*, 2011);**

- Réduire les infections du tractus respiratoire en garantissant les animaux indemnes de mycoplasmes, et en contrôlant certains facteurs environnementaux comme l'humidité, la ventilation, la teneur en poussière et en ammoniac dans l'air **(Oyetunde et *al.*, 1978);**

- La qualité de l'eau de boisson est primordiale. Il faut dès lors veiller à la changer très régulièrement pour qu'elle reste toujours propre et potable surtout dans les abreuvoirs **(Jordan et Pattisson, 1996);**

- Combattre les rongeurs commensaux des volailles qui sont des réservoirs de colibacilles virtuellement pathogènes, les insectes parasites, coprophages, nécrophages qui sont des hôtes virtuels **(Guérin et *al.*, 2011);**

- Toutes les mesures préventives de séparation des animaux par classes d'âge et d'espèce, désinsectisation, dératisation, nettoyage, désinfection et vide sanitaire entre chaque lot sont aussi indispensables dans la prévention des colibacilles **(Villate, 2001 ; Jordan et Pattisson, 1996).**

6.7.2. Prophylaxie médicale

Etant donné le peu de connaissances et l'énorme diversité des souches d'*E. coli* aviaires en matière de facteurs de virulence, aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuelle pour lutter efficacement contre les colibacilloses aviaires. En conséquence, l'antibiothérapie basée sur un diagnostic précis et un antibiogramme ainsi que la prophylaxie, restent encore les seuls moyens de lutte contre cette maladie, malgré l'incidence croissante des résistances et le risque accru de sa transmission à l'homme **(Mainil, 2003).**

6.8. Traitement

A l'heure actuelle, le traitement repose encore essentiellement sur l'antibiothérapie, menées sur une collection de 1600 souches d'*E.coli*, ont montré que le nombre de souches résistantes à divers antibiotiques allait en s'accroissant; il est donc plus que jamais nécessaire de réaliser un antibiogramme avant ou en parallèle à l'antibiothérapie.

Des traitements alternatifs aux antibiotiques existent comme l'emploi de l'acide ascorbique qui contribue à intensifier l'activité des phagocytes **(Stordeur et Manil, 2002).** Si le choix est possible, il est préférable d'utiliser des molécules comme les quinolones par voie orale (acide nalixidique, acide oxolinique, fluméquine, enrofloxacine), les lincosamides par voie orale, les aminosides par voie parentérale, les β-lactamines par voie orale, et les tétracyclines. Cependant, il faut faire attention à certains antibiotiques, comme les aminosides, la colistine, la spectinomycine ou la framýcétine, qui ne franchissent par la barrière intestinale donc inactifs lors des colibacilloses systémiques s'ils sont administrés par voie orale **(Boissieu et Guerin, 2008).**

Chapitre 2:Antibiotiques et antibio-résistances

1. Historique des antibiotiques

En 1877, Pasteur et Joubert ont observé qu'un micro-organisme se multiplie mal dans un liquide envahi de moisissures. Ernest Duchesne, en 1897, a remarqué que les palefreniers enduisent de moisissures, recouvrant ainsi, les cuirs placés dans des endroits chauds, humides et sombres des écuries, pour éviter que les plaies de leurs chevaux ne s'infectent. Il décrit ainsi l'inhibition de la croissance des micro-organismes par une moisissure, un Pénicillium.

En 1929, Fleming a découvert un Pénicillium sur une boîte de Pétri. Il a mis en évidence l'inhibition du staphylocoque doré par cette culture de Pénicillium. En 1942, Chain a obtenu une forme stable et utilisable in vivo (essais sur souris) de la pénicilline, qui permettrait l'élaboration du premier antibiotique.

En 1942,la pénicilline a été produite à l'échelle industrielle et a été utilisée pendant la 2ème guerre mondiale**(Avril,1980).**

2. Définition d'un antibiotique

Un Antibiotique (ATB) est une substance antibactérienne d'origine biologique (champignon ou bactérie), synthétique ou semi synthétique, qui agit sélectivement à faible concentration et en quelques heures sur une étape du métabolisme bactérien**(Avril, 1980).**

3. Origines des antibiotiques

Un antibiotique peut être élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi- synthétique).

-Les antibiotiques naturels ou produits par les micro-organismes : champignons (pénicillines, céphalosporines) ou bactéries (streptomycine, chloramphénicol, polypeptides) ;

-Les antibiotiques synthétiques ou produits obtenus entièrement par voie chimique : sulfamides, acide nalidixique ;

- Les antibiotiques semi-synthétiques : ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique.

4.Effets des antibiotiques

4.1. Antibiotique bactériostatiques

Quand il inhibe seulement la croissance et la multiplication des bactéries : l'infection ne sera finalement vaincue que par les défenses naturelles de l'organisme**(Collin, 1992).**

4.2. Antibiotique bactéricide

Quand il détruit les germes. L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre : plus un antibiotique détruit des types différents de bactéries, plus son spectre est large **(Collin, 1992).**

4.2.1. Antibiotiques à spectre large

Il s'agit d'un antibiotique efficace sur un grand nombre de types de germes. Ainsi, l'antibiotique sera actif sur une grande partie de tous les cocci et de tous les bacilles. Les bacilles Gram-négatif sont les plus nombreux. D'une manière indirecte, un spectre large est forcément actif sur les bacilles Gram-négatif. Les antibiotiques à spectre large sont utilisés lorsque le germe n'est pas identifié et que la pathologie peut être dûe à différents types de germes **(Stora, 2013)**.

4.2.2. Antibiotiques à spectre étroit

Il s'agit d'un antibiotique efficace sur un nombre limité de types de germes. Cette spécificité lui permet ainsi de cibler un germe et une pathologie **(Stora, 2013)**.

4.2.3. Antibiotiques à spectre moyen ou limité

Il s'agit d'un antibiotique dont l'efficacité est réduite ou partielle sur un groupe de germes. Il concerne aussi un spectre anciennement large et réduit par l'apparition de résistance bactérienne **(Stora, 2013).**

5. Principales familles d'antibiotiques

5.1. β-lactamines

Les β-lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leur indication en thérapeutique **(Livermore, 1995)**. La grande variété de leur mode d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent l'importance de leur utilisation seule ou en association **(Cavallo et *al.*, 2004)**.

5.1.1. Classification des β-lactamines

Comme illustré dans la figure 6, les β-lactamines sont classées en quatre groupes **(Gautier, 2007):**

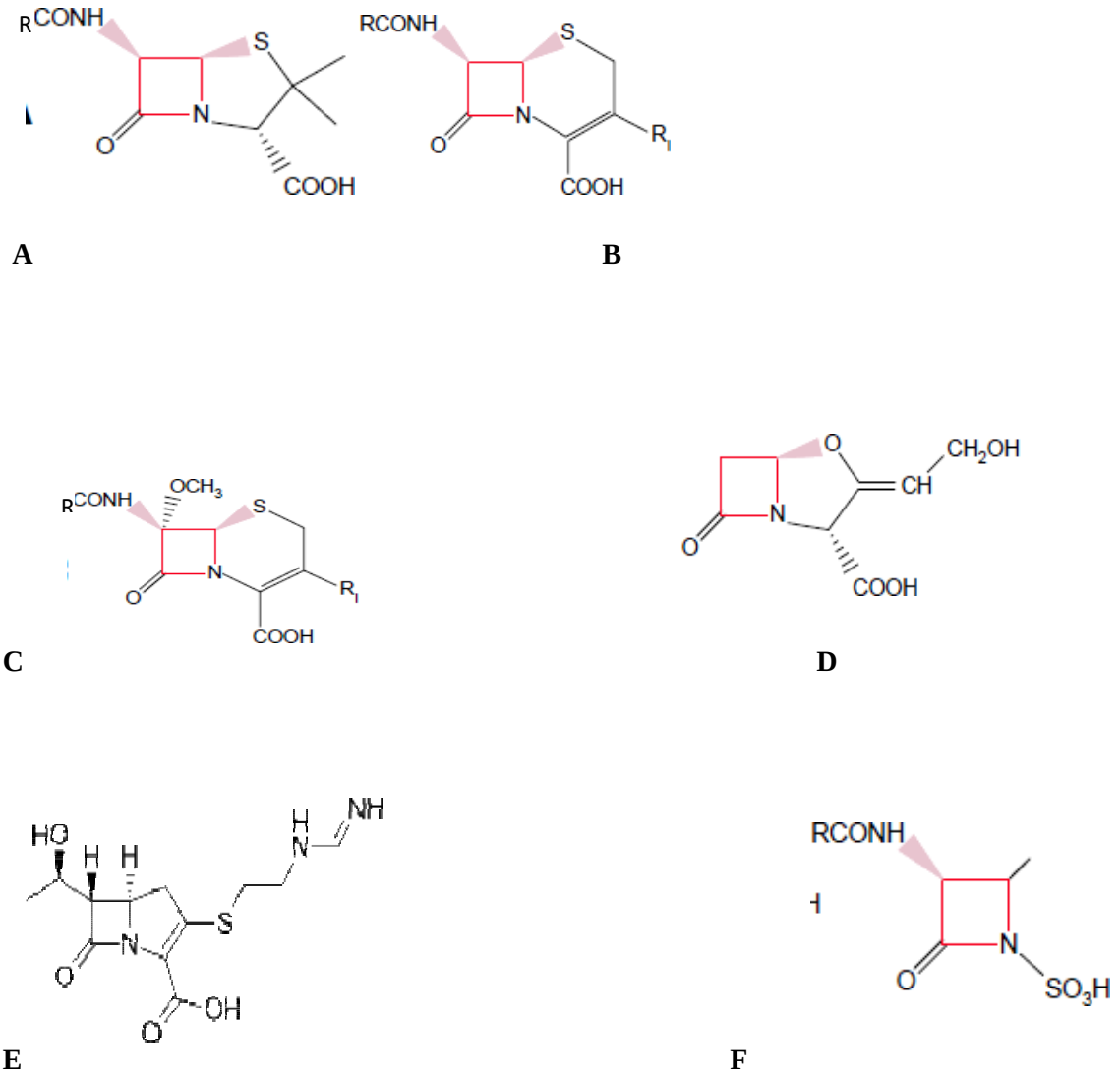


Figure 6 : Structure des principales β-lactamines**(Bryskier, 1999).**

A : pénicillines ; **B** : céphalosporines ; **C** : céphamycines ; **D** : acide clavulanique ; **E** : imipénème ; **F** : monobactames.

- Les pénicillines également appelées les pénames : les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β-lactame. Elles différent par la nature de leur chaine latérale **(Nauciel, 2000);**
- Les céphalosporines : constituées d'un noyau β-lactame associé à un noyau dihydrothiazine**(Yala et *al*., 2001);**

- Les carbapénèmes : se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3, également présenté sur les céphalosporinases**(Wolff et *al*., 2009);**
- Les monobactames : le noyau est limité au cycle β-lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle utilisé en clinique humaine **(Chaabane et *al*., 2009).**

5.2.Aminosides

Les aminosides, également appelés aminoglycosides sont des molécules naturelles produites par des actinomycètes ou obtenues par hémisynthèse. Elles sont constituées de deux ou plusieurs sucres aminés liés par une fonction glycosidique à un noyau hexose. Ce sont des oligosaccharides basiques, polaires et hydrophiles qui sont, d'un point de vue structural, organisés autour d'un cycle central caractéristique de type aminocyclitol sur lequel sont greffés divers sucres aminés **(Mingeot- Leclercq et *al*., 1999).** Les aminosides ont un large spectre antibactérien particulièrement contre les bactéries Gram négatif, peu sensibles aux pénicillines et aux sulfamides.

Elles sont majoritairement bactéricides avec une action rapide et dose dépendante qui constitue l'un de leurs grands avantages thérapeutiques **(Vakulenko et Mobashery, 2003).**

5.3.Tétracyclines

Elles sont éliminées par voie biliaire et urinaire et restent actives sur certaines bactéries à développement intracellulaire comme les brucelles, Chlamydia, Mycoplasma et Rickettsia**(Nauciel et Vildé, 2008).** Elles inhibent la synthèse protéique en se liant de façon réversible à la sous-unité 30S du ribosome. Cette fixation inhibe celle de l'aminoacyl-ARNt et bloque l'étape de reconnaissance de la phase d'élongation de la chaîne peptidique **(Moellering, 1995).**

5.4.Phénicolés

Le chloramphénicol est très actif pour le traitement de la fièvre typhoïde, en raison de sa toxicité (risque d'aplasie médullaire mortelle), il n'est plus commercialisé **(Naucielet Vildé, 2008).** Il perturbe la synthèse protéique en inhibant la peptidyl- transférase dans la sous-unité 50S. Le chloramphénicol entraîne un blocage de l'élongation de la chaîne peptidique et donc du cheminement des ribosomes le long de l'ARNm. La libération du polypeptide synthétisé en fin de lecture de l'ARNm est également bloquée **(Tortura et *al*., 2003).**

5.5.Quinolones/ Fluoroquinolones

Les quinolones doivent leur découverte à la recherche sur la chloroquine. Des chercheurs du « the Sterling-Winthrop laboratories in Rochester, NY » ont accidentellement découvert un produit dérivé de sa synthèse et doué de vertus antibactériens : la 7-chloroquinoléine. Cette molécule a été

développée pour donner l'acide nalidixique **(Sarkozy, 2001).** Ce dernier a été grandement utilisé, depuis pour le traitement des infections urinaires. De façon générale, les quinolones sont caractérisées par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale, une bonne pénétration tissulaire**(Larouche, 2001).** Quant aux fluoroquinolones, ils sont caractérisés par la présence d'un atome de fluor en position 6 et d'un cycle azoté, le plus souvent une pipérazine, en position 7 **(Courvalin et *al*., 2006) .**

6. Modes d'action des antibiotiques

Les 4 principaux modes d'action des antibiotiques sont :

- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne, c'est-à-dire l'inhibition la synthèse de peptidoglycane;
- Inhibition de la synthèse de la membrane cytoplasmique ;
- Inhibition de la synthèse de l'ADN bactérien ;
- Inhibition de la synthèse de protéines bactériennes **(Caruba et Jaccoulet,2015).**

6.1.Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Certaines bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi qui contient en particulier une couche de peptidoglycane plus ou moins épaisse; un polymère spécifique comportant des acides aminés et des sucres. C'est ce peptidoglycane présent dans la paroi qui contribue à la solidité mécanique de la bactérie. Les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane (notamment les β-lactamines) bloquent les différentes étapes de cette synthèse, ayant ainsi un effet létal pour la bactérie (bactéricide) **(Nauciel et Vildé; 2008).**

Les β-lactamines traversent la paroi bactérienne et se fixent sur des protéines cibles appelées les Protéines liant les Pénicillines (PLP). Ces PLP sont un groupe d'enzymes regroupant les transpeptidases, transglycosylases et carboxypeptidases, impliquées dans la synthèse et le remodelage du peptidoglycane, constituant principal de la paroi bactérienne. La fixation des β- lactamines sur les PLP est facilitée parce que 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 **(Stratton, 2000).** En se fixant sur les PLP, les β-lactamines vont subir l'ouverture de leur cycle et bloquer le fonctionnement de ces enzymes. L'inactivation principalement des transpeptidases déclenche un ensemble de réactions qui aboutit à l'inactivation des inhibiteurs des autolysines bactériennes. Ce sont ces autolysines qui vont alors dégrader le peptidoglycane, entrainant finalement la lyse bactérienne et l'effet d'auto-suicide **(Stratton, 2000).**

6.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

La synthèse des protéines est un processus essentiel des cellules vivantes. L'élément central de ce processus dans lequel l'ARN messager est traduit en protéine est le ribosome, l'organite cellulaire qui est responsable de cette étape. Il existe un grand nombre de molécules d'antibiotiques capables de bloquer sélectivement la traduction des protéines chez les bactéries. De ce fait, approximativement la moitié des antibiotiques utilisés en thérapeutique ont pour cible le ribosome bactérien.

La grande majorité de ces antibiotiques est bactériostatique, à l'exception des aminosides qui sont bactéricides **(Page et *al*., 1999; Nauciel et Vildé, 2008).**

6.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome

6.2.1.1. Mécanisme d'action des aminosides

Le mode d'actiondesaminosides consiste en leur fixation sur la sous-unité 30S : à concentration sub-thérapeutique, ils provoquent des erreurs de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines, et à concentration thérapeutique, ils inhibent l'élongation de la chaine peptidique en bloquant le complexe d'initiation **(Lavigne, 2007).**

6.2.1.2.Mécanisme d'action des tétracyclines

Ils inhibent la synthèse protéique en se fixant de façon réversible à la sous-unité 30S des ribosomes et en empêchant l'attachement des aminoacyl-ARNt au site A du ribosome, et en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique **(Lavigne, 2007).**

6.2.2.Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome

6.2.2.1.Mécanisme d'action du chloramphénicol

Le chloramphénicolagit en se fixant à la sous-unité 50S du ribosome (au site A) empêchant ainsi l'attachement des amino-acylARNt au site A du ribosome. Il inhibe également la polymérase **(Lavigne 2007 ; Neal, 2007).**

6.3.Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

6.3.1. Mécanisme d'action des quinolones

Ce sont des antibiotiques bactéricides. Leur mode d'action consiste en l'inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliquées dans cette synthèse: l'ADN gyrase et l'ADN topo- isomérase IV. Les quinolones altèrent ainsi rapidement la réplication de l'ADN, induisant la mort de la bactérie **(Tankovic et Duval, 1997 ; Neal, 2007).**

6.3.2.Mécanisme d'action des fluoroquinolones

Les enzymes bactériennes : l'ADN gyrase ou topoisomérase II et la topo-isomérase IV sont les cibles principales des fluoroquinolones**(Muylaert et Mainil, 2013).**Les fluoroquinolones interagissent avec le complexe ADN-enzyme c'est-à-dire avec l'ADN gyrase liée à l'ADN bactérien ou avec la topo-isomérase IV liée à l'ADN bactérien pour créer des changements de conformation qui aboutissent à l'inhibition de l'activité enzymatique. Le nouveau complexe fluoroquinolone- enzyme-ADN bloque la progression de la fourche de réplication inhibant ainsi la synthèse normale de l'ADN**(Hooper, 2000 ; Cambau et Guillard, 2012).**

7. Antibo-résistances

7.1. Définition

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. On effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression <<résistance bactérienne aux antibiotiques>>, qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employés se fondent sur les critères microbiologiques (résistance in vitro) et sur les critères cliniques (résistance in vivo). Selon la définition microbiologique de terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylo-génétiquement liées**(Muylaert et Mainil, 2012)**.

Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivés dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place **(Muylaert et Mainil, 2012).**

7.2. Types de résistance aux antibiotiques

7.2.1.Résistance naturelle

Pour chaque classe d'antibiotiques, il existe des espèces bactériennes sur lesquelles l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. On parle d'espèces bactériennes naturellement résistantes et de mécanismes de résistance intrinsèques. Ceci peut être dû à l'absence de la cible (comme l'absence de paroi chez les mycoplasmes les rendant insensibles aux β-lactamines) ou encore à l'absence de pénétration de l'antibiotique (rôle de la membrane externe par exemple chez les bactéries Gram négatif avec la vancomycine).

7.2.2.Résistance acquise

Les bactéries peuvent également acquérir la résistance à un antibiotique. Cette acquisition peut être liée à une (des) mutation(s) modifiant la cible de l'antibiotique, ou un schéma métabolique. Cette acquisition peut être la conséquence d'un transfert horizontal, y compris entre espèces éloignées phylogéniquement. Les gènes de résistance aux antibiotiques chez les micro-organismes producteurs (et par lesquels ils résistent à leurs propres produits) sont généralement localisés sur le chromosome. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que plasmides, transposons, intégrons ou encore sur des phages. Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population **(Afssa,2006).**

7.3. Voies de transmission des résistances aux antibiotiques

Différentes voies peuvent être mises en œuvre :

7.3.1.Transmission verticale

La diffusion de résistance peut se faire par la voie verticale. En effet, le génome bactérien est soumis à des mutations chromosomiques. Ce phénomène est rare et spontané. Dans le cas d'une mutation codant une résistance à un antibiotique, ce dernier joue le rôle de révélateur, cette résistance représente 10 à 20% de la résistance clinique rencontrée**(Ferron, 1994 ; Collectif 2008).**

7.3.2.Transmission horizontale

Les bactéries ont aussi la possibilité d'effectuer un transfert de résistance horizontal , y compris entre des espèces éloignées phylogénique ment, cette transmission peut donc se faire des bactéries pathogènes vers des bactéries commensales ou inversement, ce type de transfert de résistance concerne souvent plusieurs familles d'antibiotiques simultanément **(Davison et *al*.,2000;Collectif, 2008)**.Dans cette transmission, le transfert des gènes porteurs de résistances est rendu plus efficace après leur intégration sur des petits éléments mobiles :les plasmides qui sont des petites molécules d'ADN circulaires indépendantes du chromosome bactérien et autonomes ; elles sont présentes dans le cytoplasme bactérien de manière facultative **(Afssa,2006; Ferron,1994;Collectif,2008; Scott, 2009)**. Trois principaux mécanismes de transfert horizontal d'éléments génétiques sont connus entre bactéries donneuses et réceptrice d'une même espèce ou d'espèces de genres différents **(Doublet et *al*., 2012)**

- **Transformation** : intégration par une bactérie réceptrice, d'un fragment d'ADN nu étranger suite à la lyse d'une autre bactérie ;
- **Transduction** : transfert d'un fragment d'ADN étranger à une bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un vecteur viral (bactériophage) ;

-**Conjugaison** : transfert d'un fragment d'ADN issu d'une bactérie donneuse à une bactérie réceptrice, sous la forme d'un plasmide dans la grande majorité des cas. Il s'agit du mécanisme le plus efficace

(transfert le plus rapide d'importantes quantités d'information génétique) et donc le plus souvent impliqué dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques **(Lavigne et *al*., 2002).**

7.4. Biochimie de la résistance

7.4.1. Résistance croisée

La résistance croisée correspond à la résistance à tous les membres d'une classe d'antibiotiques due à un seul mécanisme de résistance **(Courvalin,2008).**

On peut citer les mutations dans l'ADN gyrase (topoisomérases de type II) et topoisomérase IV au niveau de la région appelée Quinolone Resistance Determining Region(QRDR) des gènes *gyrA* et *par C* cibles des quinolones et qui sont composées de 2fois 2 sous-unités codées respectivement parles gènes *gyrA,gyrB* et *par E* qui confèrent la résistance aux fluoroquinolones**(boucheron et*al*., 2003) o**u la résistance aux 4-6-desoxystreptamines par méthylationdel'ARN16S**(Galimand et*al*.,2005).**

7.4.2.Co-résistance

Dans la co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun confère (par résistance croisée) la résistance à une classe d'antibiotiques, ce qui entraîne un large phénotype résistant de la bactérie hôte **(Courvalin, 2008).**

7.5. Voies biochimiques de la résistance aux antibiotiques

On peut classer les mécanismes de résistance aux antibiotiques en 4 groupes:

7.5.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

La bactérie résistante produit une enzyme capable d'induire une modification de la molécule d'ATB par l'ajout de groupements acétyle, adéninyle ou phosphorique, aboutissant ainsi à son in activation ou à sa destruction **(Abdennebi, 2006 ;Doucet,2006).** C'est le mécanisme le plus important quantitativement et qualitativement. Il est utilisé par les bactéries Gram-négatif contre les β-lactamines**(Alami et *al*.,2005).**

7.5.2.Modification de la cible

La liaison de l'antibiotique à sa cible est inhibée par une reprogrammation ou camouflage de cette dernière. La molécule ne la reconnait plus et devient inactive. Ce phénomène est dû à des bactéries qui ont la capacité de mutation d'un gène responsable de la biosynthèse de la protéine sur laquelle agit l'antibactérien **(Abdennebi,2006 ;Paquet-bouchard,2006).**

Chez *Staphylococcus aureus*, la résistance par modification de PLP, par exemple ,est due à la présence d'une PLP ayant une très faible affinité pour les β-lactamines . Cette nouvelle PLP est due à

l'acquisition d'un gène chromosomique appelé *mecA* ou l'acquisition de fragments d'ADN étranger au niveau des gènes des PLP, donnant naissance à des mosaïques **(Naucieletvildé,2008).**

7.5.3. Diminution de la perméabilité

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles**(Nauciel etVildé, 2008).** Des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines ou les altérer et de ce fait entraver la pénétration de l'ATB **(Pagès,2004; NaucieletVildé,2008).**

Ces mutations peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément :B-lactamines ,aminosides ,et quinolones **(Pagès,2004 ;Denyeret Maillard,2002;NaucieletVildé,2008).**

7.5.4. Excrétion de l'antibiotique par efflux

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant la non-accumulation de l'antibiotique: c'est l'excrétion ou efflux **(Alami,2005).**L'efflux actif est un mécanisme de transport membranaire nécessitant de l'énergie qui pompe l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur plus vite qu'il ne rentre . Les antibiotiques exerçant leur action sur des cibles cytoplasmiques seront les plus touchés **(Croize,2005).**

7.6. Mécanismes de résistances aux d'antibiotiques

7.6.1. Mécanismes de résistance aux β-lactamines

Les mécanismes de résistance aux β-lactamines peuvent être divisés en deux grandes catégories, les mécanismes de résistance : enzymatiques et non enzymatiques.

Les mécanismes de résistance enzymatiques sont liés à la production de β-lactamases qui hydrolysent les β-lactamines. On peut schématiquement classer les β-lactamases en deux catégories: les pénicillinases et les céphalosporinases. Les premières ont un support plasmidique ou chromosomique et sont présentes chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les secondes sont d'origine chromosomique et uniquement présentes chez les bactéries à Gram négatif.

Les mécanismes dits « non enzymatiques » sont liés soit à des modifications des PLP, surtout chez les bactéries à Gram positif, soit à des modifications de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif. L'autre mécanisme de résistance non enzymatique est la conséquence d'une diminution de la perméabilité par modification de différentes structures de la membrane externe. Une diminution quantitative des porines semble être le mécanisme majeur de ce type de résistance chez les entérobactéries, alors que ce serait des modifications du LPS qui expliqueraient la résistance par « imperméabilité » **(Gutmann et Williamson, 1987).**

7.6.2.Mécanismes de résistance aux aminosides

Le mécanisme le plus fréquent est l'inactivation enzymatique des aminosides par résistance acquise des Staphylocoques et des bacilles Gram négatif. Ces bactéries peuvent synthétiser des enzymes qui vont modifier la structure de l'aminoside : par phosphorylation, nucléotidylation d'un groupement OH ou acétylation d'un groupement NH2 **(Archambaud, 2009).**

7.6.3. Mécanismes de résistances aux tétracyclines

Le principale mécanisme de résistances vis-à-vis ces antibiotiques est le système d'efflux. Les géne*s et* codent pour des protéines membranaires qui permettent l'efflux de l'antibiotique hors de la cellule, empêchent son accumulation intracellulaire et sa fixation au ribosome. Un autre mécanisme de résistance est la protection du ribosome, via l'expression de protéines cytoplasmiques qui se fixent sur le ribosome, empêchant ainsi la fixation de l'antibiotique et entraînant son relargage vers le milieu extérieur et rendent au ribosome sa conformation originelle **(Courvalin et Leclercq,2012).**

7.6.4. Mécanismes de résistances au chloramphénicol

La résistance bactérienne au chloramphénicol est médiée par deux mécanismes.Le premier mécamisme est une acétylation du chloramphénicol en acétyl ou en diacétyl ester,par une enzyme bacterienne. Les dérives acétylés sont biologiquement inertes car ils ne peuvent se lier aux chromosomes. L'acétyltransférase est responsable de la diffusion de la résistance au chloramphénicol chez les bactéries aérobies, Gram positif ou Gram négatif.Les gènes codant pour cette enzyme sont portés par un plasmide**(Schaechter et *al*.,1999).**

Le deuxième mécanisme qui inactive le chloramphénicol a été mis en évidence chez les bactéries anaérobieset consiste en une réduction d'un groupe p-nitro sur la molécule **(Schaechter et *al*.,1999).**

7.6.5.Mécanismes de résistances aux quinolones

Les mécanismes résultent de mutations chromosomiques.

- Modification de cible : Les topoisomérasessont modifiées. La résistance est croiséeavec l'ensemble des quinolones mais avec une augmentation des CMI différentes pour les quinolonesde 1ère génération et les fluoroquinolones ;

- La résistance par efflux actif touche d'avantage les molécules hydrophiles (Ciprofloxacine)**(Archambaud, 2009).**

Partie Expérimentale

I. Objectifs :

Le but de notre étude est d'isoler et d'identifier le germe *Escherichia coli* à partir des sujets (poulets de chair) présentant les lésions de colibacillose et d'étudier leur sensibilité vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques.

II. Lieu et période de l'étude :

L'étude s'étend sur une période de 1 mois, du 29 avril jusqu' au 29 mai 2021. Elle est menée dans la région Est et Centre d'Algérie, dans la wilaya de Médéa. Les sujets sont récupérés à partir des élevages situés à l'Est d'Algérie (Sétif et Biskra Principalement).

L'autopsie des sujets est effectuée au niveau des élevages où les foies et cœurs sont prélevés stérilement sur place et acheminés dans une glacière sous couvert du froid positif à (+ 4°C), au laboratoire pédagogique de microbiologie département biologie de Université Farés Yahia Médéa pour les examens bactériologiques.

III. Matériel et méthodes :

III.1. Matériel :

III.1.1. Echantillonnage et prélèvement :

Les sujets qui proviennent des élevages sont des sujets morts ou sacrifiés. Au total, 50 sujets ont été récoltés 5sujets/ élevages 10 élevages sont concernés. Ils présentent les lésions pathognomoniques de la colibacillose à l'examen nécropsique : aérosacculite, péricardite et/ou périhépatite. Les organes sont prélevés stérilement et mis dans des pots stériles (figure 07).

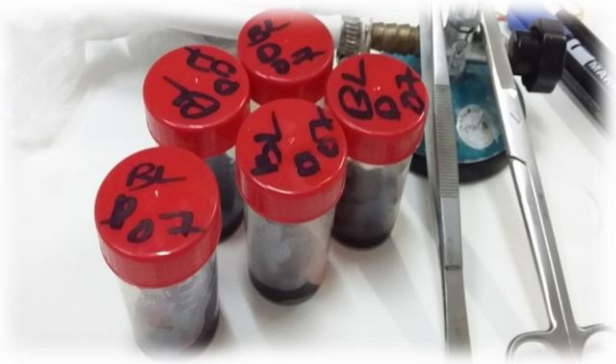


Figure 7: Prélèvements d'organes dans les pots stériles (Photo originale, 2021)

III.1.2. Milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés lors de notre expérimentation sont les suivant (voir annexe) :

- BHIB (Brain Heart Infusion Broth) est un milieu d'enrichissement pour les *E. coli*, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Mac Conkey, milieu d'isolement des bactéries lactose +, Bio Lab, Algérie ;
- Hektoen Gel,milieu d'isolement des bactéries lactose + /-, Bio Scan, Algérie ;
- Milieu Urée-Indole, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Milieu TSI, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Milieu Mueller Hinton utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme, Institut Pasteur
- d'Algérie ;
- Pour l'identification biochimique, nous utilisons la galerie API 20E, BioMérieux, France.

III.1.3. Produits de laboratoire :

Les produits de laboratoire et réactifs utilisés sont les suivants:

- Eau de javel,alcool 70°, eau physiologique 0,9% ;
- Huile de vaseline stérile, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif Kovac's, VP1, VP2, TDA (Tryptophane Désaminase), Institut Pasteur d'Algérie ;
- Ecouvillons ;
- Disques d'antibiotiques présentés dans la figure 08.

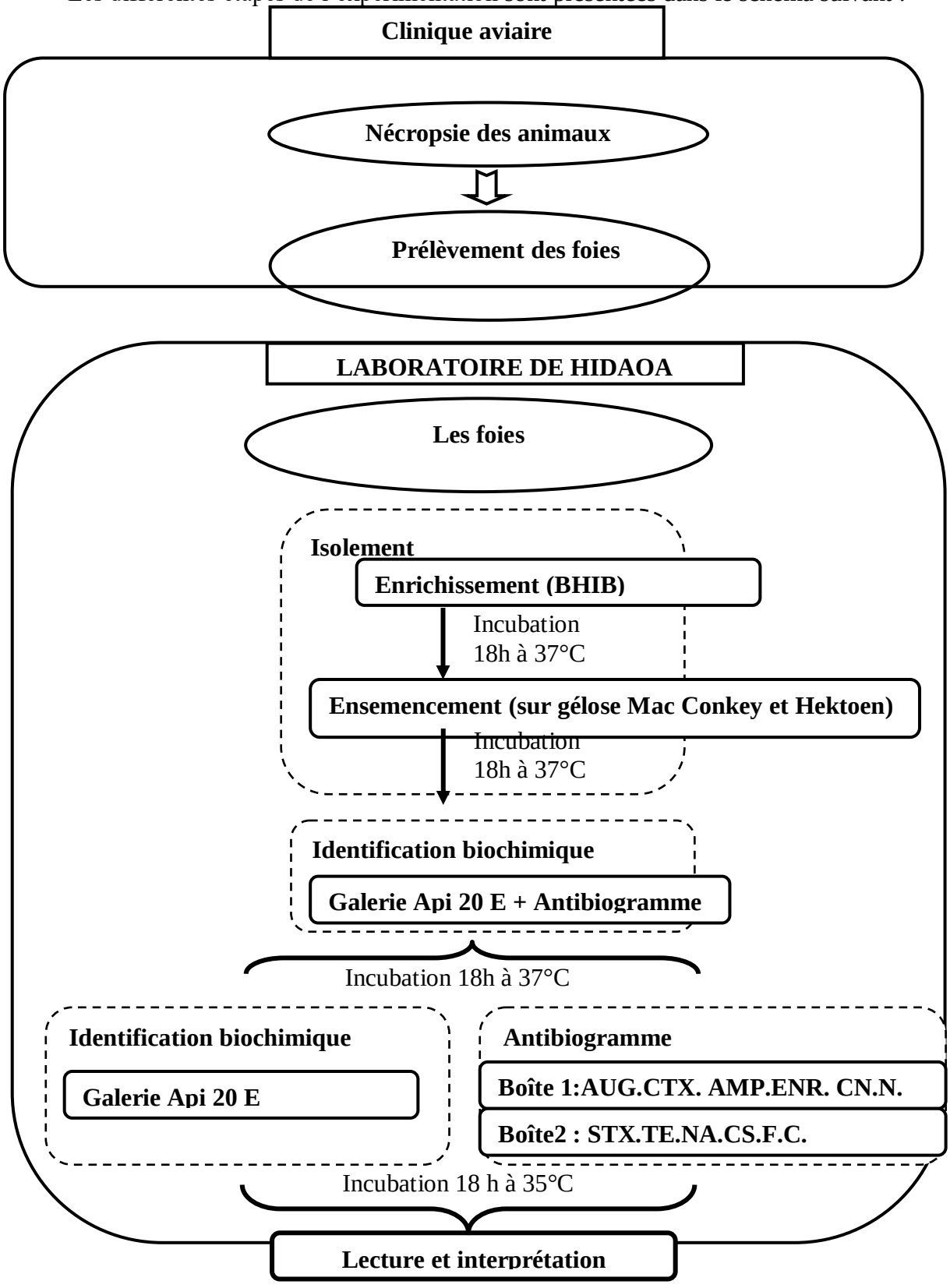


Figure 8 : Etuis de disques imprégnés d'antibiotiques (photo originale, 2021)

III.2. Méthodes :

III.2.1. Conduite expérimentale :

Les différentes étapes de l'expérimentation sont présentées dans le schéma suivant :



III.2.2. Autopsie :

L'autopsie ou la necropsie est un temps essentiel du diagnostic en pathologie aviaire et une etape primordiale; elle est faite pour determiner les causes de mortalités des sujets. Cependant elle nécessite une connaissance parfaite des techniques d'autopsie, de la topographie normale des organes, mais aussi des principales images lésionnelles que l'on peut rencontrer dans la pratique courante.

Nous avons suivi au cours de notre travail le protocol préconisé par Madjo et Dolz, (2012) et qui est résumé dans les étapes suivantes :

a. Examen externe et préparation de l'animal ;
b. Exploration de la cavité oropharyngée et de la trachée ;
c. Dépouillement du cadavre ;
d. Ouverture du cadavre et éviscération, observation de la cavité thoraco-abdominale ;
e. Examen du tube digestif et de ses glandes annexes ;
f. Examen du cœur et de l'appareil respiratoire ;
g. Examen des appareils génital et urinaire ;
h. Examen des organes hémato-lymphopoiétiques ;
i. Examen du système nerveux ;
j. Examen de l'appareil locomoteur.

III.2.3. Bactériologie :

Après avoir réalisé les autopsies, les echantillons prélevés (foies) sont acheminés au laboratoire d'HIDAOA pour les tests microbiologiques. Avant ces etapes bacteriologiques ont a procédé a :

- La désinféction de la pallaisse avec l'eau de javel ;
- L'allumage du bec benzen pour travailler dans des conditions stériles ;

L'isolement et l'identification d'*E. coli* sont réalisés selon le protocole préconisé par Livrelli *et al.* (2007).

III.2.3.1. Isolement des *Escherichia coli :*

La surface des organes est flambée puis l'organe est coupé stérilement en de petits dés à l'aide d'une pince et de ciseaux stériles (figure 09).

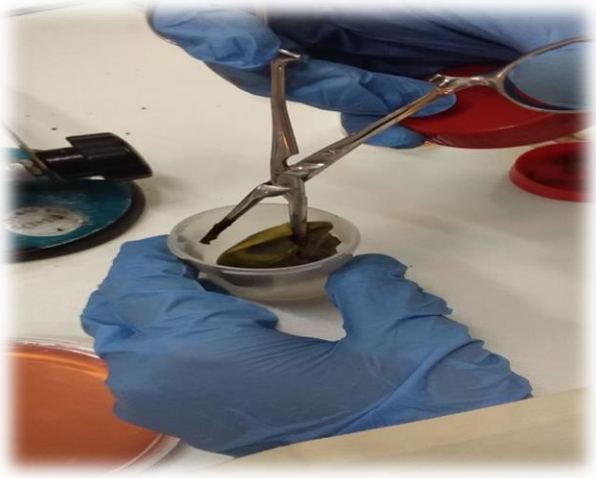


Figure 9 : Foie et coeur découpés stérilement en petits dés (Photo originale, 2021)

III.2.3.1.1. Enrichissement :

Le milieu d'enrichissement, tube de BHIB, est ensemencé par l'introduction des petits dés d'organes à l'intérieur du tube puis incubé 18 à 24 h à 37°C (figure 10).

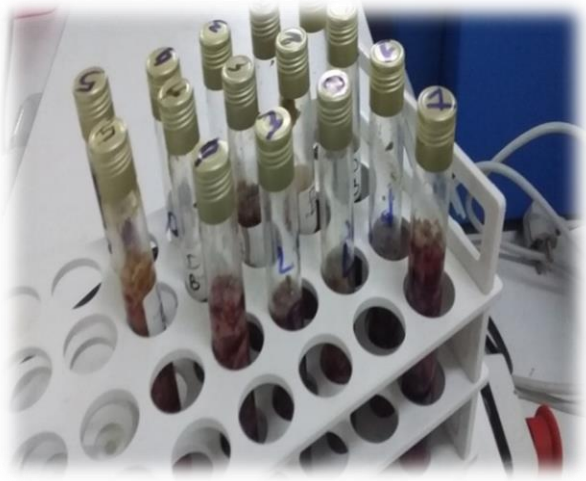


Figure 10 : Enrichissement des organes sur BNO (Photo originale, 2021)

III.2.3.1.2. Ensemencement :

On procède à l'ensemencement par la technique d'épuisement, à partir du tube BHIB contenant les organes et incubé la veille. Une goutte de BHIB est ensemencée sur les géloses Mac conkey et/ou Hektoen ,puis une deuxième incubation est pratiquée pendant 18 à 24h à 37°C.

III.2.3.2. Identification des *Escherichia coli :*

L'étape suivante concerne l'identification microbiologique. Elle permet de diriger l'opérateur vers une classe bien définie de bactéries. Elle met en œuvre les réactions suivantes :

III.2.3.2.1. Identification morphologique :

Sur le plan macroscopique :

Sur une gélose Mac conkey ,elle repose sur l'observation de colonies rondes et bombées,brillantes à bord net, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur rose clair et entourées d'un halo opaque dû à la précipitation de sels biliaires (figure 11). Cependant, elles sont de couleur jaune saumons sur une gélose Hektoen.

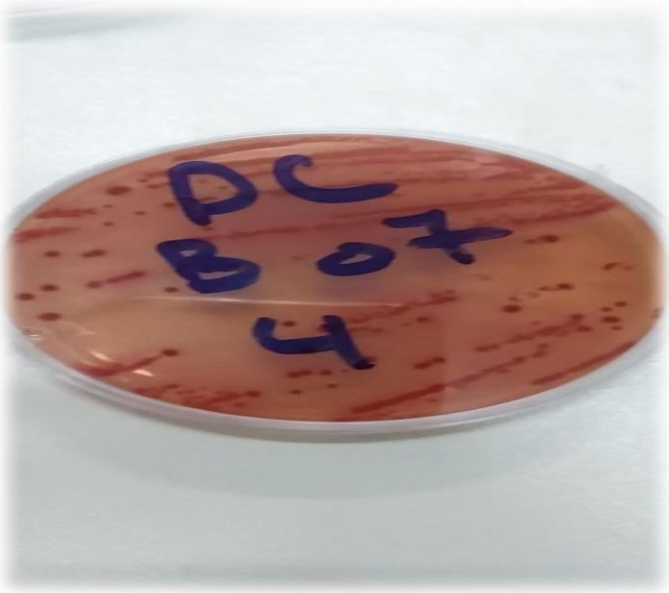


Figure 11: Aspect des colonies *E.coli* sur gélose Mac conkey (photo originale, 2021)

III.2.3.2.2. Identification biochimique :

III.2.3.2.3. Identification biochimique par API 20 E :

a) Objectif :

La galerie API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

b) Principe :

La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue le test indiqué par un sigle au-dessus du microtube.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanément ou révélés par l'addition de réactifs (figure 12).



Figure 12 : Galerie API 20 E après incubation et ajout des réactifs (Photo originale, 2021)

c) Mode opératoire :

c-1. Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;

- Sortir la galerie de son emballage ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

c-2. Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ;
- Prélever des colonies sur le milieu TSI, en utilisant des cultures jeunes de 18-24 h à l'aide d'une pipette Pasteur ;
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

c-3. Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le coté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;

- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.

- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules).

- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H_2S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de vaseline.

- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

d. Lecture de la galerie :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (voir annexe) après addition des réactifs suivants :

- ❖ Une goutte de réactif TDA au test TDA ;
- ❖ Une goutte de réactif James au test IND ;
- ❖ Une goutte de réactif VP1 et VP2, et attendre au minimum 10 mn, au test VP.

e. Interprétation de la galerie :

L'identification est obtenue à partir du profil numérique qui est déterminé sur la fiche de résultats. Les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres.

La réaction d'oxydase, qui constitue le 21^{éme} test, est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. Alors l'identification est faite à l'aide de :

- ✓ Catalogue analytique, en recherchant le profil numérique dans la liste des profils ;
- ✓ Logiciel d'identification API web™, en entrant manuellement le profil à 7 chiffre.

III.2.3.3 Antibiogramme :

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard ou la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton, Institut Pasteur d'Algérie), selon les normes NCCLS (National Comittee For Clinical Laboratory Standards) qui est recommandée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).

Tableau 3 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme

Famille	Antibiotiques testés	Charge du disque	Sigle	Origine
Bétalactamines	Amoxicilline/Ac clavulanique	20/10 µg	AMC 30	Liofilchem, Italie
	Ampicilline	10 µg	AMP 10	
	Céfotaxime	30 µg	CTX 30	
Phénicolés	Chloramphénicol	30 µg	C 30	
Polypeptides	Colistine	10 µg	CL 10	
Aminosides	Néomycine	30 µg	N 30	
	Gentamicine	10 µg	GN^{10}	Himedia, Inde
Sulfamides	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	(25) µg	COT^{25}	
Furanes	Nitrofurantoïne	300 µg	F 300	
Cyclines	Tétracycline	30 µg	TE 30	Bio-rad, France
Quinolones	Acide nalidixique	30 µg	NA 30	
	Enrofloxacine	5 µg	ENR 5	

III.2.3.3.1. Principe :

La méthode de diffusion, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme, si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

III.2.3.3.2. Technique :

La gélose (Mueller Hinton) est coulée la veille en boîtes de Pétri stériles, sur une épaisseur de 4 mm ; les géloses sont séchées avant l'emploi.

A- Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ;
- L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

B- Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;

❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;

❖ Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (2 fois).

N.B : Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut changer l'écouvillon à chaque fois.

C- Application des disques d'antibiotiques :

❖ Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre comme indiqué dans le tableau 6:

Tableau 4 : Application des disques d'antibiotique par boîte de pétri

Boites	**LES DISQUES D'ANTIBIOTIQUES**
1	COT CL NA TE C F
2	AMC CTX AMP ENR GN N

❖ Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre ;

❖ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

D-Incubation :

❖ 18 heures à 35°C ;

❖ La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

III.2.3.3.3. Lecture :

❖ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;

❖ Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale Médecine humaine et vétérinaire 7éme Edition (2014);

❖ Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

III.2.6. Recherche de la β-lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries

Les β-lactamases à spectre élargi ou étendu désignent les enzymes « β-lactamases » produites par les entérobactéries. Ces enzymes codent pour la résistance aux céphalosporines de 3ème génération (cefotaxime…) mais n'ont aucune activité vis-à-vis des céphamycines (cefoxitine, moxalactam) ni des carbapenemes (imipenème).

III.2.6.1.1. Technique pour les Entérobactérie « test de synergie »

Selon Jarlier *et al.,* (1988), La recherche de la β-lactamase à spectre élargi se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant le disque d'**amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10µg)** à 30 mm (centre à centre) d'un disque de céphalosporine de 3 ème génération **cefotaxime (CTX 30µg)** Incuber 18 heures à 35°C.

Lecture test de synergie

La production d'enzyme peut se traduire sur l'antibiogramme classique par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques AMC et CTX.

En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de céphalosporines de 3ème génération ou de monobactam .

III.2.3.4. Analyse statistique :

Le traitement statistique des données et les présentations graphiques sont réalisés à l'aide d'un logiciel Microsoft Office Excel 2007. Pour la comparaison des résultats nous appliquons les tests non paramétriques, le test Chi deux (χ^2), la correction de Yates et le test exact de Fisher (le seuil de signification est d'au moins (5%).

Remarque : Nous comparons nos résultats à chacune des autres études et non pas les études entre ell

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Rappel de l'objectif

Notre objectif est :

L'isolement et l'identification de germe ***Escherichia coli*** à partir du foie et cœur (organe filtre concentrant les germes) de sujets présentant de la congestion généralisée des organes et de la carcasse, des lésions d'aérosacculite, de péricardite et de périhépatite, pathognomoniques de la colibacillose lors de l'autopsie ;

L'étude de leur sensibilité vis-à-vis de douze molécules antibiotiques.

II. Bactériologie :

II.1.Isolement et identification des *E. coli :*

Sur les 50 prélèvements, 50 isolats d'*E. coli* ont été récoltées, soit 100% de nos sujets étaient positifs. Pour les 1 sujet ont a pu isoler *Citrobacter brakii* avec des *E.coli*.

Dans notre étude, la bactérie *E. coli* a été isolée des organes des sujets suspectés, ce qui confirme le rôle de l'examen de l'aspect extérieur de la carcasse et des lésions comme diagnostic préalable de la maladie. Pour ce qui est de la présence éventuelle d'autres entérobactéries, dans ce cas isolement de *Citrobacter brakii* peut être dû :

- Un éventuel défaut lors du prélèvement : le respect de l'aseptise lors de récupération des organes ;
- L'état de fraicheur des sujets : après la mort du sujet, une multiplication peut avoir lieu et sortie de la flore intestinale qui envahit les organes et les contamine ;
- Possibilité de coïnfections.

II.2.Antibiogramme :

Douze antibiotiques sont testés sur chacune des **50** souches d'*Escherichia coli* isolées.

Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec la table de lecture des

entérobactéries (vétérinaire) selon les recommandations du standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 7 ème édition (2014)(voir annexe) :

Les résultats de l'antibiogramme **(figure 13)** des souches *Escherichia coli* isolées des organes (foies et cœurs) des animaux présentant les lésions de la colibacillose respiratoire et la colisepticémie sont présentés dans le tableau des résultats (voir annexe).

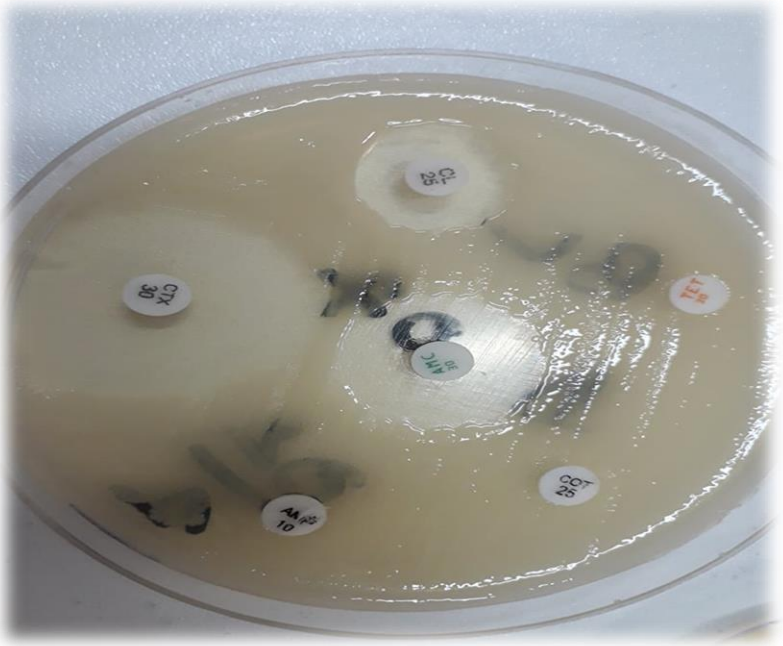


Figure 13 : Boite n 1 de l'antibiogramme (Photo originale, 2021).

Le tableau 5 et la figure 14 montrent les pourcentages de résistances de 50 souches *E. coli* isolées lors de notre étude:

Tableau 5 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *E .coli*

	Nombre de Souches *E. coli* isolées et testés N=50				
Familles	**Antibiotiques testés**	**Nombre de souches (%)**			
		R	**I**	**S**	**R+I**
Bétalactamines	Amoxicilline/Ac clavulanique	***25(50)***	5(10)	20(40)	30(60)
	Ampicilline	***40(80)***	7(14)	3(6)	47(94)
	Céfotaxime	***0(0)***	0(0)	50(100)	0(0)
Cyclines	Tétracycline	***49(98)***	1(2)	0(0)	50(100)
Quinolones	Acide Nalidixique	***49(98)***	1(2)	0(0)	50(100)
	Enrofloxacine	***33(66)***	10(20)	7(14)	43(86)
Sulfamides	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	***44(88)***	0(0)	6(12)	44(88)
Aminosides	Gentamicine	***0(0)***	0(0)	50(100)	0(0)
	Néomycine	***20(40)***	7(14)	23(46)	27(54)
Polypeptides	Colistine sulfate	***0(0)***	0(0)	50(100)	0(0)
Furanes	Nitrofurantoïne	***14(28)***	7(14)	29(58)	21(42)
Phénicolés	Chloramphénicol	***4(8)***	1(2)	45(90)	5(10)

R: Résistante **I**: Intermédiaire **S**: Sensible

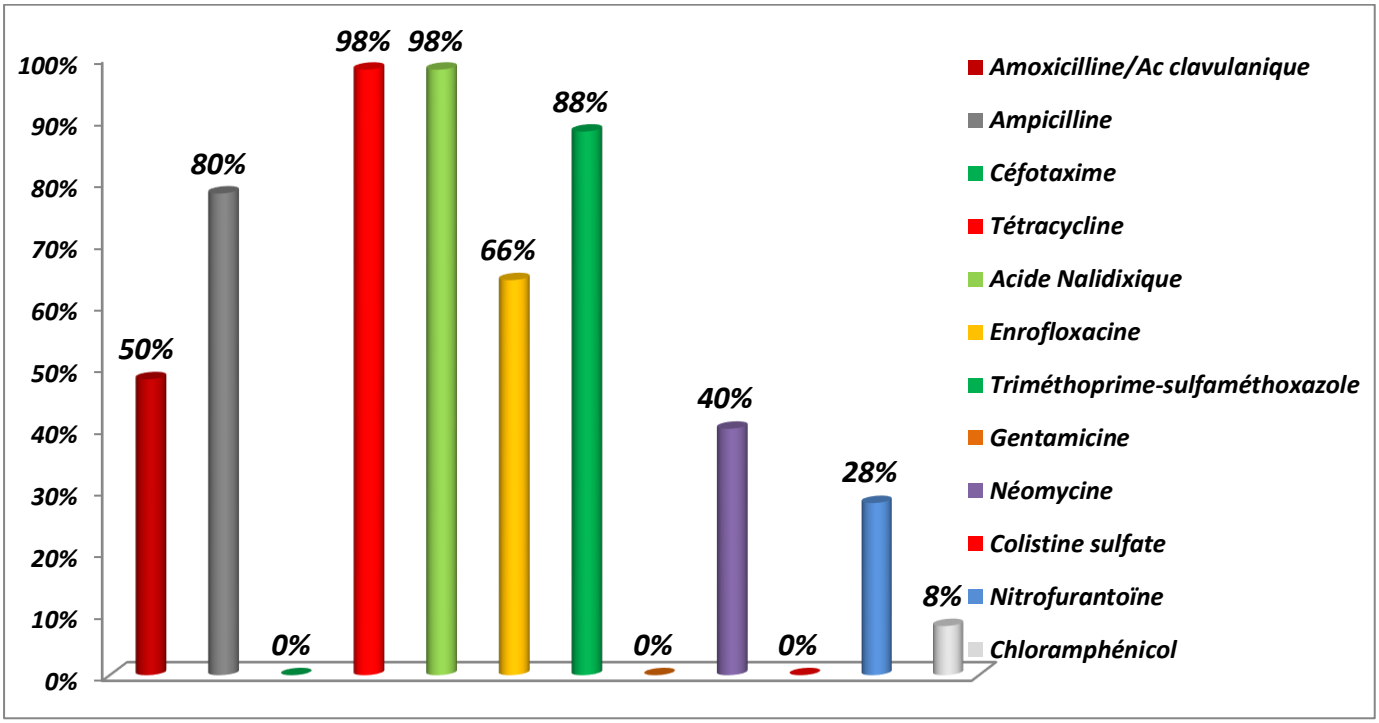


Figure 14 : Pourcentages de résistances des souches *E.coli*

Vue la diversité des pourcentages, les résultats sont classées en trois groupes. Comme préconisé par Saberfar et *al.* (2008).

- Les antibiotiques pour lesquels de très hauts niveaux de résistance sont observés (de 60 à 100) sont compris dans le Groupe I. Ces antibiotiques sont par ordre croissant : Triméthoprime/ Sulfamethoxazole (88%), Ampicilline (78%) et l'Enrofloxacine (64%), Tétracycline et Acide nalidixique (98%).

-Le Groupe II comprend des antibiotiques pour lesquels des niveaux moyens de résistance (de 20 à 60%) sont obtenus. Ce sont : Nitrofurane (28%), Néomycine (40%), Amoxicilline/AC (48%).

-Le Groupe III comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux bas de résistance (de 0 à 20%) sont notés. Ce sont : Gentamicine, Cefotaxime et Colistine sulfate (0%), Chloramphénicol (8%).

Dans cette étude, il ressort clairement que les molécules les plus efficaces contre les colibacilles sont celles qui sont classées dans le Groupe III, avec des taux de sensibilité plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles. Le taux de sensibilité est de100% pour la Colistine sulfate, Gentamicine et Céfotaxime. Et de 92% pour Chloramphénicol.

Tableau 6 : Fréquence des antibiorésistances dans notre étude et pour d'autres études en Algérie

ATB	Nos Résultats(%)	*Messai et al., (2013)*	*Achir (2016)*	*Halfaoui et al., (2017)*	*Megunni et al. (2019)*
Ampicilline	80	84.5	92.31	83	83.3
Amoxicilline/ Ac Clavulanique	50	87.8*	69.23	43.1	16.7*
Céfotaxime	0	/	30.77*	0	36.1*
Trimethoprime / sulfamethoxazole	88	82.2	53.85*	88.8	66.6
Colistine	0	5.5€	15.38Ω	6.5€	0
Acide nalidixique	98	96.7	100	85.6	83.4
Tétracycline	98	98.3	92.31	94.1	57.1*
Chloramphénicol	8	45.6*	7.69	39.2*	/
Nitrofurane	28	18.9	7.69*	0*	/
Enrofloxacine	66	72.2	69.23	86.2	60
Néomycine	40	75*	15.38*	/	42.8
Gentamicine	0	5.5€	0	1.9€	2.8€

*: Test KHI2 difference significative P≤ 5.00%

Ω : Correction de Yates pour le test KHI2 différence significatif P≤ 5.00%

€ : Pas de condition pour application de la Correction de Yates pour KHI2

II.3. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques

II.3.1. Les β-lactamines

Les résultats mettent en évidence une forte résistance des *E. coli* à cette famille d'antibiotiques, avec des taux de 80% pour l'Ampicilline et de 50% pour Amoxicilline/ Ac clavulanique. Cependant, la résistance vis-à-vis de la Céfotaxime est nulle.

Pour Amoxicilline/ Ac clavulanique, un taux de résistance de **50%** est obtenu .Ce résultat est bas par rapport aux résultats de Messaï et *al.* (2013), Achir (2006), Halfaoui *et al.,* (2017) et Megunni *et al.* (2019) où ils ont enregistrés les taux de 87.8%, 69.23%, 75.8% et 83.3 respectivement, dans les régions Centre et Est de l'Algérie.

Pour Ampicilline un taux de résistance de **80%** est obtenu. Ce résultat est bas par rapport aux résultats de Messaï et *al.* (2013), Achir (2006), Halfaoui *et al.,* (2017) et Megunni *et al.* (2019) où ils

ont enregistré les taux de 84.5%, 92.31%, 83% et 83.3 % respectivement, dans les régions Centre et Est de l'Algérie.

Ces taux élevés de résistance vis-à-vis de l'Amoxicilline / Ac clavulanique et de l'Ampicilline sont probablement liés à l'utilisation abusive et anarchique des β-lactamines dans les élevages avicoles sans avis de vétérinaire. Il existe une diversité de mécanismes de résistances du germe vis-à-vis de cette famille, soit par diminution de l'affinité du β-lactame vis-à-vis des PLP et la diversité des mécanismes de resistances des *E.coli* vis-à-vis de cette famille comme rapporté par Gaudyet Buxeraud (2005), soit par production de β-lactamases comme rapporté par Quintiliani et Courvalin (1995).

II.3.2. Les Tétracyclines

Pour cette famille d'antibiotiques, un taux de résistance de **98%** est obtenu vis-à-vis de la tétracycline, cette molécule renferme un taux de résistance très élevé.

Nos résultats sont semblables à ceux de Messaï et *al.* (2013) dans la région Est d'Algérie avec un taux de 98.3%, et ceux d'Achir (2006) et Halfaoui et al., (2017) dans le Centre d' Algerie avec des taux de 92.31 et 94.1% respectivement. Mais nettement supérieur au taux enregistré par Megunni et al., (2019) où ils ont enregistré 57.1%.

Les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées, également en thérapie que préventivement, ces molécules ont une activité bactériostatique et ils ont une bonne diffusion tissulaire et intracellulaire comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005), ils ont aussi été utilisés comme "facteurs de croissance", engendrant des résistances très élevées en aviculture. La persistance et l'augmentation croissante de cette résistante sont attribuées, en partie, à l'usage intempestif de cette famille d'antibiotiques à large spectre, mais également à leur incorporation systématique dans l'alimentation des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine, et à des doses souvent sub-thérapeutiques, en prophylaxie ou dans le but de stimuler la croissance et d'améliorer le rendement. Cette dernière possibilité est évoqué ya plus de 50 ans, comme cause probable de l'apparition des souches résistantes comme rapporté par Abdennebi (2006).

II.3.3. Les quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'acide nalidixique, quinolone de première génération, et l'enrofloxacine, quinolone de troisième génération. Les taux de résistance sont de **98%**pour l'acide nalidixique et de **66%** vis-à-vis de l'enrofloxacine.

Pour l'Acide nalidixique, nous avons obtenu des valeurs proches à ceux enregistrés par Messaï et *al.* (2013), Achir (2006), Halfaoui *et al.*, (2017) et Megunni *et al.* (2019) où ils ont enregistré les taux de 96.7%, 100%, 85.6% et 83.4% respectivement, dans les régions Centre et Est de l'Algérie.

En ce qui concerne l'Enrofloxacine. Notre résultat de **66%** est aussi proche par rapport aux résultats obtenus Messaï et *al.* (2013), Achir (2006) et Megunni *et al.* (2019) où ils ont enregistrés les taux de 72.2%, 69.23%, et 60% respectivement, dans les régions Centre et Est de l'Algérie. Mais relativement bas par rapport au taux de Halfaoui *et al.*, (2017) qui est de 86.2%.

La résistance aux quinolones est exclusivement liée à des mutations chromosomiques :

- Mutations sur les gènes codant pour les topo-isomérases, entrainant une perte d'affinité de l'enzyme pour les quinolones ;
- Augmentation du transport actif de l'antibiotique hors de la bactérie comme signalé par Gaudy et Buxéraud (2005) et Nauciel et Vildé (2008).

Ces taux très élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques peuvent être expliqués, d'une part, par la forte utilisation de ces molécules en raison de leur grande disponibilité sur le marché algérien, et surtout par la présence de génériques à prix très abordables, alors qu'il ya quelques années, il n'existait que la molécule mère, très onéreuse ; d'autre part au fait que les quinolones partagent un seul et même mécanisme d'action.

Selon Boucheron *et al.* (2003), deux mutations dans le gène gyrA et une ou deux mutations dans le gène parC au niveau de la région QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) chez les souches *E. coli* d'origine aviaire, confèrent un haut niveau de résistance vis-à-vis de l'acide nalidixique et de l'enrofloxacine.

II.3.4. Les sulfamides

En thérapeutique, les sulfamides se retrouvent dans trois classes médicamenteuses : les anti-infectieux, les antidiabétiques oraux et les diurétiques**.**

Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole, connue sous le nom commercial de Bactrim®.

Nos résultats sont de **88%.** Ces derniers sont élevés par rapport aux résultats enregistrés par Achir (2016) dans la région de Centre d'Algérie avec un taux de 53.85%. Aussi à ceux de Megunni et al (2019) dans la région Centre d'Algérie où ils ont enregistré un taux de 66.6%, et ceux qu'a obtenu Messaï et al (2013) dans la région de Sétif (82.2%), mais sont bas par rapport à ceux obtenus par Halfaoui et al. (2017) dans la région Centre d'Algérie (88.8 %).

Leur spectre d'action, théoriquement large, englobe la majorité des espèces bactériennes à Gram + et à Gram -

Les taux importants enregistrés, également dans notre étude que par d'autres auteurs, est probablement la conséquence de la très importante prescription de cet anti-infectieux, utilisé notamment dans la prévention contre les salmonelles, et aussi lors de coccidioses. Cette molécule est utilisée quasi-systématiquement en association avec des anticoccidiens dans le traitement et la prévention de ces dernières, conduisant ainsi à son inefficacité contre les colibacilles.

II.3.5. Les aminosides

La sensibilité des souches isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de deux molécules de cette famille d'antibiotiques, que sont la néomycine, et la gentamicine.

Pour la néomycine, nous avons obtenu un taux de résistance de **40%**. C'est un taux inférieur à celui de Messaï et *al.* (2013) avec (75%). Néanmoins, il est supérieur à celui enregistré par Achir (2016) avec un taux de 15,38%. Et reste proche au taux enregistré par Megunni et al. (2019) qui est de 42.8%.

Pour la gentamicine, nos résultats révèlent une absence totale de la résistance**,** contrairement à ceux de Messaï et *al.* (2013) avec (5.5%), ceux de Halfaoui et *al.* (2017) avec (1.9%) et ceux de Megunni *et al.* (2019) avec (2.8%).

La forte sensibilité des souches *E.coli* vis-à-vis de la gentamicine est due à la non utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles d'où un taux de résistance nul.

En pratique, il existe des contraintes quant à son utilisation : dans certains pays, comme l'Iran, la gentamicine n'existe que sous la forme injectable (très récemment en poudre), forme intéressante pour les éleveurs car l'administration de ce produit requiert une main-d'œuvre spécialisée qui coûte cher. De plus, la manipulation des sujets provoque un stress et peut rendre la situation délicate. Les injections ne sont pas tolérées chez le poulet, spécialement lors de colibacillose, comme rapporté par Saberfar et al. (2008).

II.3.6. Les polypeptides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est la colistine, les résultats indiquent une résistance nulle de **0%.**

Nos résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par Messai et *al.* (2013) avec 5.5 %, Achir (2006) avec un taux de 15.38% et Halfaoui et al (2017) avec un taux de 6.5%. Ils sont comparables à ceux rapportés par Megunni et *al.* (2019) avec 0%.

Ce taux nul de résistance peut être expliqué par l'utilisation prudente de cette molécule en élevage avicole dans la région étudiée car elle ne franchit pas la barrière intestinale et est donc inactive *per os* sur les colibacilles systémiques. Elle est cependant utilisée en association avec les β-lactamines car cette association procure un effet synergique**,** et peut aider à la maîtrise des colibacilles pathogènes respiratoires encore en situation intestinale.

II.3.7. Les phénicolés

La sensibilité des souches *E. coli* isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Nous enregistrons un taux de résistance de **8 %.**

Nos résultats, sont inférieurs à ceux de Messai *et al.* (2013) dans la région Est d'Algérie et Halfaoui *et al.* (2017) dans le Centre d'Algérie, où ils obtiennent les taux de 45.6%, 39.2% respectivement, et proche à ceux de Achir (2016) avec un taux de 7.69 %.

Ce médicament n'est plus sur le marché officiel. Ce taux partiellement élevé serait donc le fait de la persistance d'une résistance acquise antérieurement, d'une résistance *croisée* ou plus vraisemblablement à une utilisation illégale de cet antibiotique. La même remarque est valable pour toute autre molécule interdite, entre autres les nitrofuranes.

II.3.8. Les furanes :

La sensibilité de nos souches est testée vis-à-vis du nitrofurane lequel un taux de résistance de **28 %** a été enregistré.

Nos résultats sont supérieurs à ceux de Messaï *et al.* (2013) dans la région Est d'Algérie de taux de 18,9%, un taux nul 0% pour Halfaoui *et al.* (2017), et de 7.69 % pour Achir (2016) dans le Centre d'Algérie.

Cet antibiotique ayant été retiré de la nomenclature vétérinaire et n'ayant été à aucun moment administré lors de cette étude, tout laisse supposer que la résistance observée est le fruit d'une résistance croisée. Elle aurait dans ce cas un support plasmidique du fait de l'émergence rapide de souches porteuses de plasmides de multirésistance aminoglycoside et Nitrofurane, ou, comme indiqué précédemment, en raison d'une utilisation illégale.

II.4.Les multirésistances :

Les taux de multirésistance sont présentés dans le tableau 7 et la figure 15 :

Tableau 7 : Pourcentages de multirésistances des souches *E.coli* aux antibiotiques

Nombre des antibiotiques	Nombre des souches	Le pourcentage %
0	0	0
1	0	0
2	1	2
3	1	2
4	8	16

5	14	28
6	15	30
7	7	14
8	4	8
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
Total	50	100

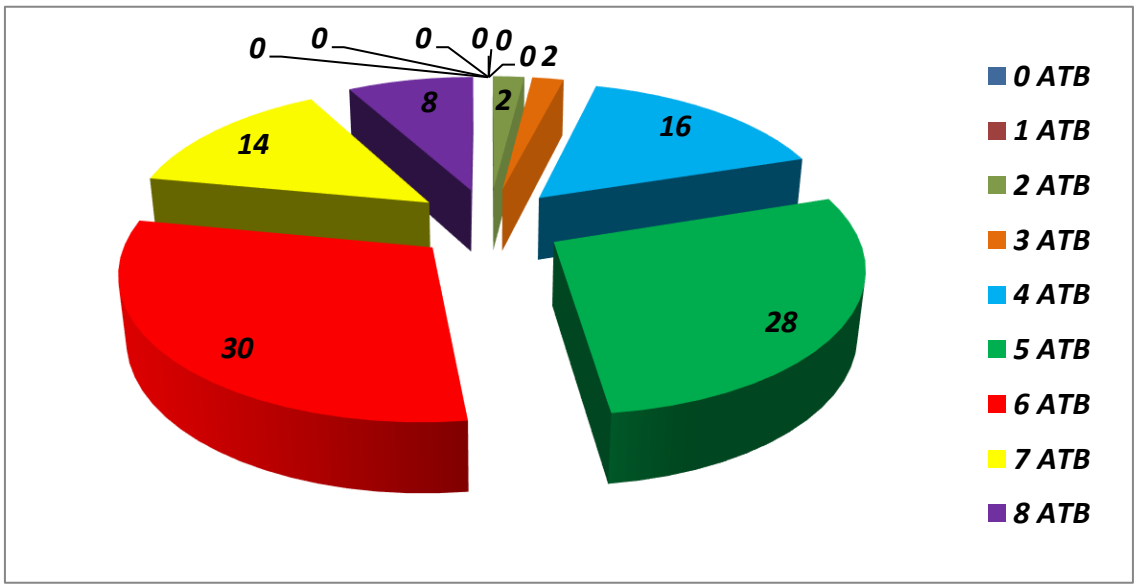


Figure 15: Pourcentages des multirésistances des souches *E.coli* isolées

Il parait que les forts pourcentages de multirésistance sont enregistrés vis-à-vis de 4, 5, 6, et 7 antibiotiques avec des pourcentages de 16%, 28% 30% et 14% respectivement. Une autre valeur plus ou moins inquiétante est enregistrée à l'encontre de 8 antibiotiques qui est estimée à 8%.

Cette forte multirésistance peut être due à l'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques dans le secteur avicole, sans recours à l'antibiogramme.

Cette multirésistance est alarmante car elle présente un énorme risque pour l'élevage avicole lors de transmissions plasmidiques des résistances d'une bactérie à une autres, d'où des échecs aux

traitements, et par conséquent diminution de la production à cause de taux de morbidité et de mortalité élevés. D'autre part, Lafont *et al.* (1984), et Chulasiri et Suthienkul (1989) rapportent que les caractéristiques des souches *E. coli* aviaires sont souvent identifiées chez d'autres souches *E. coli* isolées d'autres animaux. De ce fait, les souches *E. coli* aviaires peuvent être une source potentielle de transmission de gènes et plasmides qui codent pour la résistance aux antibiotiques, ainsi que des facteurs de virulence.

Tableau 08 : les profils de résistance (Antibiotypes) isolés lors de notre étude.

Antibiotypes	**Désignation**	**Nombre des souches**	**Pourcentage (%)**
AUG-AMP-SXT-NA-TE	**A**	7	14%
AUG-AMP-SXT-NA-TE-ENR	**B**	6	12%
AMP-SXT-NA-TE-N-ENR	**C**	5	10%
AMP-SXT-NA-TE-N	**D**	5	10%
SXT-NA-TE-ENR	**E**	4	8%
AUG-AMP-SXT-NA-TE-N-F-ENR	**F**	3	6%
AMP-SXT-NA-TE-N-F-ENR	**G**	2	4%

Parmi les 25 profils de multirésistance obtenus sur les 50 souches isolées dans notre étude, 7, désignés de A à G, attirent l'attention particulièrement, dont les plus importants sont : le profil A et B avec 14% et 12%, les profils C et D avec un taux de 10 %.

Il faut aussi tenir en compte du danger véhiculé par les souches qui expriment le profil **F** car elles expriment une résistance vis-à-vis de **8** antibiotiques, et permettent ainsi la dissémination d'un large phénotype de résistance, malgré leur faible prévalence 6%.

Ces résultats reflètent l'utilisation abusive et anarchique de ces produits en raison de leur large disponibilité sur le marché algérien, en l'absence de législation réglementant leur utilisation à titre thérapeutique et préventif. Ainsi, plusieurs antibiotiques sont utilisés couramment à titre préventif et curatif, sans recours à l'antibiogramme pour choisir la molécule la plus efficace contre le germe en cause.

Ces souches peuvent transférer leur large phénotype d'antibiorésistance par transmission verticale à leur descendance et par transmission horizontale à des espèces différentes de bactéries via l'échange de matériel génétique, permettant la diffusion de ces profils et réalisant la transmission épidémique de cette multirésistance, d'une part. D'autre part, la contamination de l'homme par ces bactéries multirésitantes (par exemple lors d'opération d'abattage) constituera l'une des causes majeures des difficultés de traitement chez l'homme.

Van Den Bogaard *et al.* (2001) ont isolé des souches *E. coli* chez les humains qui travaillent en promiscuité avec les oiseaux, exprimant les mêmes antibiotypes que les souches aviaires. Cette trouvaille indique que la transmission de la résistance des souches aviaires aux souches humaines est possible.

Aussi, nous mettons en évidence une co-résistance vis-à-vis de : Ampicilline, Triméthoprime/ sulfaméthoxazole, Acide nalidixique, Tétracycline (AMP - SXT – NA - TE). Presque la moitié (56%) de nos souches expriment cette co-résistance, elle est présente chez les souches *E.coli* qui ont les profils de multirésistance les plus importants: A, B, C, D, F et G.

Selon Courvalin (2008), la conséquence de cette organisation génétique est la co-sélection : une classe d'antibiotiques à laquelle la bactérie est résistante pourra sélectionner la résistance à des classes d'antibiotiques non reliées, engendrant ainsi un large phénotype résistant de la bactérie.

Conclusion

Et Recommandations

Les pertes économiques causées par les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) restent encore considérables. Elles sont à l'origine de lourdes pertes substantielles à cause des taux de morbidité et de la mortalité élevés, une diminution des performances qui s'est traduit par des retards de croissances, des déclassements et des saisies de carcasses aux abattoirs et les coûts de l'antibiothérapie engendrés par les différentes formes de la maladie.

A l'heure actuelle, les moyens de lutte sont représentés essentiellement par l'antibiothérapie généralisée et l'application des mesures sanitaires, cette pathologie reste fréquente et l'usage massif et prolongé des antibiotiques augmente les risques d'émergence de bactéries pathogènes résistantes « pression de sélection », de plus l'utilisation anarchique et irraisonnée des antibiotiques par les aviculteurs, sans avis vétérinaire, est une pratique qui devient de plus en plus courante.

Les méthodes conventionnelles de l'analyse bactériologique ont permis l'isolement et l'identification de l'agent étiologique qui est la bactérie *Escherichia coli* avec une prévalence de 100%. Cette valeur dénote de l'insuffisance et du dysfonctionnement de l'organisation de lutte contre ce pathogène.

Quant aux résultats surprenants de l'antibiorésistance, ce constat alarmant serait expliqué en majeure partie par l'utilisation anarchique et incontrôlée des antibiotiques dans le traitement des infections sans qu'il y ait recours à l'antibiogramme. Il paraît donc primordial de restreindre au minimum la diffusion de résistances bactériennes. L'optimisation de l'utilisation des antibiotiques chez l'homme et l'animal est actuellement une des actions prioritaires proposées par les réunions d'experts scientifiques.

Aucune souche n'est BLSE, L'émergence des souches *E.coli* productrices de betalactamase à spectre étendu ne sera pas sans conséquence sur la santé animale et humaine.

La connaissance des facteurs favorisant l'apparition de ces pathologies et le recours à d'autres moyens de lutte alternatifs contre ces bactéries seraient une nécessité. Ce type d'étude nous fournira aussi des arguments techniques susceptibles d'alimenter des discussions avec tous les acteurs de la filière avicole, car quelle que soit la stratégie qui sera adoptée par les autorités, elle ne pourra être mise en œuvre que si elle implique l'ensemble des acteurs de la filière.

En vue de réduire les forts taux de résistance individuelle et multiple des souches *E. coli* d'origine aviaire vis-à-vis des molécules d'antibiotiques, responsables des pertes économiques, et afin de rentabiliser l'élevage aviaire, les recommandations suivantes peuvent être émises :

- Organiser l'utilisation des antibiotiques chez les animaux en rendant leur prescription obligatoire par le vétérinaire ;
- Fournir des instructions à l'intention des vétérinaires afin de réduire l'utilisation abusive et erronée des antibiotiques chez les animaux d'élevage ;
- Sensibiliser les éleveurs sur l'utilisation des antibiotiques sans avis vétérinaire ;
- Entreprendre un traitement intuitif en parallèle de l'antibiogramme afin de limiter les pertes économiques si elles sont redoutées, à condition de respecter un protocole diagnostique rigoureux ;
- Réaliser l'antibiogramme afin de prescrire la molécule de choix ;
- Respecter les normes d'ambiance (température, hygrométrie, aération pour éviter l'accumulation des gaz, ammoniac en particulier) et d'hygiène est une nécessité absolue, tant pour des objectifs zootechniques que pour limiter la pression microbienne.

Références Bibliographiques

A

Abbot S., O'Connor J, Robin T., Zimmer BL., Janda JM., 2003: Biochemical properties of a newly described Escherichia species, Escherichia albertii. *J Clin Microbiol*, 41: 4852-4854

Abdennebi EH., 2006: Antibactériens en médicine vétérinaire. Actes Editions Maroc, 303 pages

Abraham EP., Chain E., 1940: An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Letters to the Editors, Lancet, Dec. 5th.

Aggad H., Ahmed Ammar Y., Hammoudi A., Kihal M., 2010 : Antimicrobial Resistance of Escherichia coli Isolated from Chickens with Colibacillosis Global Veterinaria 4 (3): 303-306.

Aguëro ME., Aron L., DeLuca AG., Timmis KN., Cabello, FC., 1984: A plasmid-encoded outer membrane protein, TraT, enhances resistance of Escherichia coli to phagocytosis. *Infection and Immunity*, 46, 740-746.

Ahmed AmmarY., 2009 : Antibiorésistance des souches E. coli d'origine aviaire. Thèse de magistère. Université ibn Khaldoun de Tiaret. Faculté des sciences agronomiques et vétérinaires. Département des sciences vétérinaires. 71 pages.

Akashi N., Hitotsubashi S., Yamanaka H., Fujii Y., Tsuji T., Miyama A., Joya JE., Okamoto K., 1993: Production of heat-stable enterotoxin II by chicken clinical isolates of Escherichia coli. *FEMS Microbiol Lett* 109:311—316.

Alami M., Barret R., Brion JD., Enguehard-Gueiffia C., Foliot P., Gaudy C., Gerondeau N., Gueffier A., 2005: Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Collection pharma Elsevier. Page 269

Ambler RP., 1980: The structure of b-lactamases. Phil. Trans. R. Soc. Lond. Biol. **289:**321-331.

Amghous S., Kheffache H., 2007 : L'aviculture algérienne en milieu rural, quel devenir après la libération des échanges.

Anon ., 2011: The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2009. EFSA Journal, 9, 2154.

Archambaud M., 2009 : Les antibiotiques. Laboratoire bactériologie et hygiène CHU Rangueil Toulouse.

B

Babai r., Blum-Oehler G., Stern BE., hacker J., Ron EZ., 1997: Virulence patterns from septicemic Escherichia coli O78 strains. FEMS Microbiol Lett, **149**, 99-105.

Barnes HJ., Lozano F., 1994: Colibacillosis in Poultry. Pfizer Veterinary Practicum, Pfizer Animal Health: Lee's Summit, MO, 45.

Barnes HJ., Vaillancourt JP., Gross WB., 2003: Colibacillosis. In B.W. Calnek (Ed.), Diseases of poultry / edited by Y. M. Saif.-11th ed.(CH:18 pp. 631 - 656). Ames, IA: Iowa State PressA Blackwell Publishing Company.

Baucheron S., Mouline C., Payot S., Cloeckaert A., Chaslus-Dancla E., 2003 : Mécanismes de résistance aux quinolones des Escherichia coli aviaires. INRA. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours.

Baudry B., Savarino JS., Vial P., Kaper JB., Levie MM., 1990: A sensitive and specific DNA probe to identify enteroaggregative Escherichia coli, a recently discovered diarrheal pathogen. *J Infect Dis,***161:** 1249-1251.

Benameura Q., Guemourb D., Hammoudi A., Aoudia H., Aggad H., Humbletf M-F., Saegermang C., 2014 : Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Chickens in West of Algeria Q. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research. Vol13, No 1, pp 366-370.*

Bettelheim KA., 1992: The genus Escherichia. In: Baloxs A., Trüpen H.G., Dworkin M., Harden X., Schleifer K.H The prokaryotes. Springer-Verlag, New York, 2696-2736.

Bettelheim KA., 2002: The genus Escherichia. In: M. dworkin .eds., the prokaryotes: an evolving electronic resource for the micribiological community, 3rd edition, Springer-Verlag, New York. http://linkspringernycom/link/service/books/10125/

Beutin L., 1999: *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. *Vet Res,* **30**:285–298

Bhan MK., Raj P., Levine MM, Kaper JB, Bhandari N, Srivastava R, Kumar R., Sazawal S., 1989: Enteroaggregative Escherichia coli associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India. *J Infect Dis,***159**: 1061-1064.

Bisgaard M., 1995. Salpingitis in web-footed birds: prevalence, aetiology and significance. Avian Pathol 24:443—452.

Bisgaard M., Dam A., 1981. Salpingitis in poultry. II. Prevalence, bacteriology, and possible pathogenesis in egglaying chickens. *NordVet* 33:81—89.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Blanco J., 1997a: Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *J Clin Microbiol,* Vol 35, No. 8 p. 2184–2185.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Blanco J., 1997b: Production of toxins (enterotoxins, verotoxins, and necrotoxins) and colicins by VT strains isolated from septicemic and healthy chickens: relationship with in vivo pathogenicity. *J Clin Microbiol,* **35**, 2953- 2957.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Jansen WH., Garcia V., Vasquez ML., Blanco J., 1998: Serotypes of *Escherichia coli* isolated from septicaemic chickens in Galicia (NorthwestSpain). *Vet Microbiol, 61:229*—235.

Bonnedahl J., Drobni M., Gauthier-Clerc M., Hernandez J., Granholm S., Kayser Y., Melhus A., Kahlmeter G., Waldenstrom J., Johansson A., Olsen B, 2009: Dissemination of Escherichia coli with CTX-M Type ESBL between Humans and Yellow-Legged Gulls in the South of France. PLoS ONE 4(6): e5958.

Bonnet R., 2004: Growing group of extended-spectrum β-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother, 48:1-14.

Bonnet R., Sampaio JL., Labia R., De Champs C., Sirot D., Chanal C., Sirot J., 2000 : A novel CTX-M β-lactamase (CTX-M-8) in céfotaxime resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother*. 44:1936–1942.

Borne PM., 1998 : les colibacilloses avicoles : des bactéries toujours à l'affut. Afrique Agriculture, 83.

Bousquet-Milou A., 2010: Antibiorésistance : usages vétérinaires des antibiotiques et santé publique, Ecole Nationale Vétérinaires Toulouse.

Bradford PA., 2001: Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*,14:933-51.

Bree A., DHO M., LAFONT JP., 1989: Comparative infectivity for axenic and specific pathogen free chickens of O2 Escherichia coli strains with or without virulence factors. Avian Dis, **33**, 134-139.

Brenner DJ., Krieg BR., Staley JT., Garrity GM., 2005: Bergey's manual of systematic bacteriology, second edition, vol. 2 (the proteobacteria), Springer New-York.

Brinãs L., Moreno MA., Zarazaga M., 2003: Detection of CMY-2, CTXM- 14, and SHV-12 beta-lactamases in Escherichia coli fecal-sample isolates from healthy chickens. Antimicrob Agents Chemother, 47: 2056–2058.

Brugère-Picoux J., 1984: Diagnostique différentiel des affections respiratoires des volailles. Rev médecine vét, 1069-1078.

Bush K., Jacoby GA., Medeiros AA., 1995: A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrobial Agents and Chemotherap, vol. 39(6):1211–1233.

C

Cantón R., Coque TM., 2006: The CTX-M β-lactamase pandemic. Curr Opin Microbiol, 9:466-75

Cantón R., Novais A., Valverde A., Machado E., Peixe L., Baquero F., Coque TM., 2008: Prevalence and spread of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect*, 14:144-153.

Cardinale E., Perrier JD., Aidara A., Tall., Coudert C., Colin M., 2002 : Salmonella spp, AFFSA.

Carr D., Shaw D., Halvorson DA., Rings B., Roepke D., 1996: Excessive mortality in market-age turkeys associated with cellulitis. *Avian Dis* 40:736—741.

Chanter N., Hall GA., Bland AP., Parkson KR., 1986: Dysentery in calves caused by an atypical strain of strain of Escherichia coli. Vet. Microbiol. **12**: 241-253.

Chen HD., Frankel G., 2005: Enteropathogenic Escherichia coli: unraveling pathogenisis. FEMS Microbiol. Rev. **29**, 83-98.

Cheville N F., Arp LH., 1978 : Comparative pathologic findings of Escherichia coli infection in birds. *J Am Vet Med Assoc* 173:584—587.

Chulasiri M., Suthienkul O., 1989: Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from chickens. *Vet Microbiol.* 21, 189—194.

Clark SR., Barnes HJ., Bickford AA., Chin RP, Droual R., 1991: Relationship of osteomyelitis and associated soft-tissue lesions with green liver discoloration in tom turkeys. *Avian Dis* 35:139—146.

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

Croize J., 2005: La résistance par Efflux, 1-33.

D

Darfeuille-Michaud A., Aubel D., Chauviere G., Bourges A., Servin A., Joly B., 1990: Adhesion of enterotoxigenic Escherichia coli to the human colon carcinoma cell line cacol in culture. Infect. Immun**. 58,** 893-902.

Denholm JT., Huysmans M., Spelman D., 2009: Community acquisition of ESBL-producing *Escherichia coli*: A growing concern. *Med. J. Aust.*, 190(1): 45-46.

Denyer SP., Maillard JY., 2002: Cellular impermeability and uptake of biocide and antibiotics in Gram-negative bacteria. J. Appl. Microbiol. Symposium (Suppl.) 92, 35S-45S.

Dhillon AS., Jack OK., 1996: Two outbreaks of colibacillosis in commercial caged layers. *Avian Dis* 40:742—746.

Dho-Moulin M., Van Den Bosch J.F., Girardeau JP., Bree A., Barat T., Lafont JP., 1990: Surface antigens from Escherichia coli O2 and O78 strains of avian origin. Infect. Immun., 1990, **58**, 740-745.

Dho–Moulin., Fairbrother JM., 1999: Avian pathogenic Escherichia coli (APEC). Vet. Res. **30**, 299-316.

Dierikx C., Van der Goot J., Fabri T., Van Essen-Zandbergen A., Smith H., Mevius D., 2013: Extended-spectrum-b-lactamase- and AmpC-b-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. J Antimicrob Chemother, 68: 60–67.

Diffou H., 1997: Contribution à l'étude pharmacocinétique de la tilcosine chez le poulet avec un essai clinique sur un cas de l'arthrite staphylococcique. These Doct. Vet. I.A.V. Hassan II, Rabat Maroc.

Diseases, **36**, 398-402.

Dos Santos L., Moura RA., Ramires PA., Pestana de Castro A., Lincopan N., 2013: Current status of extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* in animals. In: Méndez-Vilas, A., editor. Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education. Formatex Research Center, Badajoz.

Doucet N., 2006: Mutagénèse semi-aléatoire et analyse dynamique de la β-lactamase TEM-1 d'Escherichia coli. Thèse Doctorat en biochimie, Université de Montréal, Canada.

Dozois C.M., Chanteloup N., Dho-Moulin M., Bree A., Desautels C., Fairbrother JM., 1994: Bacterial colonization and in vivo expression of F1 (Type 1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic Escherichia coli. Avian Dis, **38**, 231-239.

Dozois CM., Dho-Moulin M., Bree A., Fairbrother JM., Desautels C., Curtis III R., 2000: Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian Escherichia coli and localization and analysis of the tsh genetic region. Infect. Immun. **68**, 4145-4154.

Dozois CM., Fairbrother JM., Harel J., Bosse M., 1992: Pap- and pil-related DNA sequences and other virulence determinants associated with Escherichia coli isolated from septicemic chickens and turkeys. Infect. Immun. **60**, 2648-56.

Dozois CM., Pourbakhsh SA., Fairbrother JM., 1995: Expression of P and type 1 (F1) fimbriae in pathogenic Escherichia coli from poultry. Vet. Microbiol. **45**, 297-309.

Droual R., Chin RP., Rezvani M., 1996: Synovitis, osteomyelitis, and green liver in turkeys associated with Escherichia coli. *Avian Dis* 40:417—424.

Durso LM., Bono JL., Keen JE. 2005: « Molecular Serotyping of *Escherichia coli* O26:H11 ». Appl Environ Microbiol, 71(8): 4941–4944.

Dziva F., Hauser H., Connor TS., Van Diemen PM, Prescott G., Langridge GC., Eckert S., Chaudhuri RR., Ewers C., Mellata M., Mukhopadhyay S., Curtiss III R., Dougan G., Wieler LH., Thomson NR., Pickard DJ., Stevens MP., 2013: Sequencing and Functional Annotation of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Serogroup O78 Strains Reveal the Evolution of *E. coli* Lineages Pathogenic for Poultry via Distinct Mechanisms" I*nfect. Immun.* vol. 81. N(3): 838-849.

E

Edens FW., Parkhurst CR., Qureshi MA., Casas IA., Havenstein GB., 1997a: Atypical Escherichia coli strains and their association with poult enteritis and mortality syndrome. *Poult Sci* 76:952—960.

Edens FW., Qureshi RA., Parkhurst CR., Qureshi MA., Havenstein GB., CasasIA., 1997b. Characterization of two Escherichia coli isolates associated with poult enteritis and mortality syndrome. *Poult Sci* 76:1665—1673.

Elfadil AA., Vaillancourt JP., Meek AH., Julian RJ., Gyles CL., 1996: Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. Avian Dis, **40**, 690- 698.

Escherich T., 1885: Die Darmbacterium des Neugeborenen und Säuglings. Fortschritte der Medizin. **3**: 515.

Escobar-Paramo P., Giudicelli C., Parsot C., Denamur E., 2003: The evolutionary history of Shigella and Enteroinvasive Escherichia coli revised J. Mol. Evol. **57,** 140-148.

Euzeby JP., 2005: Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. http://www.bacterio.cict.fr/bac-deco/index.html.

F

Fairbrother JM., Batisson I., Girard F., Mellata M., Pérès S., 2002: Original text on *E. coli*. Animal Health and Production Compendium, CD-ROM CAB International.

Fairbrother JM., Ngeleka M: Extraintestinal *Escherichia coli* Infections in Pigs. **In: Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon, Cab international: Wallingford, UK: CAB.

Farmer JJ., 3rd, Davis BR., Hichman-Brenner FW., McWhorter A., Huntley-Carter GP., Asbury MA., Riddle C., Wathen-Grady HG., Elias C., Fanning GR., 1985: Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens.*J Clin Microbiol*, **21,** 46-76.

Fecteau G., Smith BP., George LW., 2009: Septicemia and meningitis in the newborn calf .Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract. **25**,195 – 208.

Fenardji F., 1990 : Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algérie. Institut de Développement des Petits Elevages, L'aviculture en Méditerranée. Options Méditerranéennes, Sér. A, n°7. 9 pages.

Ferrah A., 2000 : Filières et marchées des produits avicoles en Algérie, OFAL, ITDE.

Freney J., François R., Leclerq R., Riegek P: Précis de bactériologie clinique.2éme édition. Editions ESKA. p 1764.

G

Galimand M., Sabtcheva S., Courvalin P., Lambert T., 2005: Worldwide disseminated *armA* aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. Antimicrob Agents Chemother. **49**, 2949 –2953.

Garnacho-Montero J., Ortiz-Leyba C., Jimenez-Jimenez FJ., Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL., Bernabeu-Winttell M., Gallego-Lara SL., Madrazo-Osuna J., 2003: Treatment of multdrug-resistant Acinetobacter baumanii ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin : a comparison with imipenem-susceptible VAP. Clin. Infect Dis. 36 (9), 1111-1118.

Gay CC., Besser TE: *Escherichia coli* septicemia in calves. **In: Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon, Cab international: Wallingford pp. 75–90.

Gazdzinski P., Barnes HJ., 2002. Venereal colibacillosis (acute vaginitis) in turkey breeder hens. Proc 51st Western Poult Dis Conf: Puerto Vallarta, MX, May 1—4, 176—177.

Gerardin J., Lalioui L., Jacquemin E., Le Bouguenec C., Mainil JG., 2000: The afa-related gene cluster in necrotoxigenic and other Escherichia coli from animals belongs to the afa-8 variant. Vet. Microbiol. **1945**, 1-10.

Ghebru H., 1988 : Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des *Escherichia coli*. Mémoire de maîtrise es sciences vétérinaires en microbiologie immunologie, Nantes.

Ginns CA., Browning GF., Benham ML., Whithear KG., 1998: Development and application of anaerosol challenge method for reproduction of avian colibacillosis. *Avian Pathol* 27:505—511.

Gióon JA., Jones T., Millan-Velasco F., Castro-Munoz E., L. Zarate, Fry J., Frankel G., Moseley SL., Baudry B., Kaper JB., Shoolnik GK., RileyW., 1991: Diffuse –adhering Escherichia coli (DAEC) as a putative cause of diarrhea in Mayan children in Mexico. J Infect Dis,**163**: 507-513.

Glunder G., 1990: Dermatitis in broilers caused by Escherichia coli: isolation of Escherichia coli from field cases, reproduction of the disease with Escherichia coli O78:K80 and conclusions under consideration of predisposing factors. J. Vet. Med. [B]. **37**, 383-391.

Gniadkowski M., 2008: Evolution of extended-spectrum β-lactamases by mutation. Clin Microbiol Infect, 14:11-32.

Goffaux F., China B., Janssen L., Mainil J., 2000: Genotypic characterization of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated in Belgium from dogs and cats. Res. Microbiol. 151:865–71.

Gomis S., Amoako AK., Ngeleka AM., Belanger L., Althouse B., Kumor L., Waters E., Stephens S., Riddell C., Potter A., Allan B., 2002: Histopathologic and bacteriologic evaluations of cellulitis detected in legs and caudal abdominal regions of turkeys. *Avian Dis* 46:192—197.

Greatorex JS., Thorne GM., 1994: Humoral immune responses to Shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy subjects. *J Clin Microbiol.* **32,** 1172-1178.

Grimont PAD., 1987: Taxonomie des Escherichia. Méd. Mal Infect (Numéro spécial). **17**, 6-10.

Gross WB., 1961: The development of "air sac disease." *Avian Dis* 5:431—439.

Gross WB., Siegel PB., 1959: Coliform peritonitis of chickens. *Avian Dis* 3:370—373.

Gross WG: Diseases due to Escherichia coli in poultry**. In: Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon. Cab international: Wallingford, p 237-259.

Guérin JL., Balloy D., Villate D., 2011 : Maladies des volailles. 3ème édition. Editions France Agricole.576 pages.

Guo, W., Ling C., Cheng F., Guo WZ., Ling CS., F.H., Cheng., 1998: Preliminary investigation on enterohaemorrhagic Escherichia coli O157 from domestic animals and fowl in Fujian province. Chinese J Zoonoses. 14,3-6.

Guy JS., Smith LG., Breslin JJ., Vaillancourt JP., Barnes HJ., 2000: High mortality and growth depression experimentally produced in young turkeys by dual infection with enteropathogenic Escherichia coli and turkey coronavirus. *Avian Dis* 44:105—113.

Gyles CL., 1994: Escherichia coli in domestic animals and humans**.** Cab international 649 pages.

Gyles CL., 2007: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* : an overview . J. Anim. Sci. 85 (Supplement 13). E45 – E62.

Gyles CL., Fairbrother JM., 2004: Escherichia coli. In B.W. Calnek (Ed.), Pathogenesis of bacterial infections in animals / Edited by Carlton L. Gyles, John F. Prescott,J. Glenn Songer, and Charles O. Thoen 3 rd ed. 2004 (CH:16 pp. 193 - 223). Ames, IA: Iowa State PressA Blackwell Publishing Company

Gyles CL., Fairbrother JM., 2010: Escherichia coli. In B.W. Calnek (Ed.), Pathogenesis of bacterial infections in animals / Edited by Carlton L. Gyles, John F. Prescott, J. Glenn Songer, and Charles O. Thoen 4 th ed. 2010 (CH:15 pp. 267 -308). Ames, IA: Iowa State PressA Blackwell Publishing.
H11 clonal complex.J Clin Microbiol, **8**: 2989-2993.

H

Hammermueller J., Kruth S., Prescott J., Gyles C., 1995: Detection of toxin genes in *Escherichia coli* 217 *Escherichia coli* isolated from normal dogs and dogs with diarrhea. Can. J. Vet. Res. 59:265–270.

Hammoudi A., Aggad H., 2008: Antibioresistance of Escherichia coli Strains Isolated from Chicken Colibacillosis in Western Algeria Turk. J. Vet. Anim. Sci. 32(2), 123-126.

Helali A., 2002 : Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en Médecine, Edition ENAG, Alger, pages 135-171.

Heller ED., Leitner G., Drabkin N., Melamed D., 1990: Passive immunisation of chicks against Escherichia coli. *Avian Pathol* 19:345—354.

Hennequin C., Robin F., Cabrolier N., Bonnet R., Forestier C., 2012: Characterization of a DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* strain involved in an outbreak and role of the AmpR regulator in virulence. *Antimicrob. Agents Chemother*. 56(1): 288-294.

Herren CD., Mitra A., Palaniyandi SK., Coleman A., Elankumaran S., Mukhopadhyay S., 2006: The BarA-UvrY twocomponent system regulates virulence in avian pathogenic Escherichia coli O78:K80:H9. Infection and Immunity. **74**, 4900-4909.

Hertzke DM., Cowan LA., Schoning P., Fenwick BW., 1995: Glomerular ultrastructural lesions of idiopathic cutaneous and renal glomerular vasculopathy of greyhounds. Vet. Pathol. 32,451–459.

Heuvelink AE., Zwartkruis-Nahuis JT., Van Den Biggelaar FL., Van Leeuwen WJ., E. De Boer E., 1999: Isolation and characterization of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 from slaughter pigs and poultry. Int J Food Microbiol. 52, 67-75.

Higgins PG., Fluit AC., Schmitz FJ., 2003: Fluoroquinolones: structure and target sites. Curr. Drug Targets 4 (2), 181-190.

Holloway S., Senior D., Roith L., Tisher CC., 1993: Hemolytic uremic syndrome in dogs. J. Vet. Int. Med. **7**,220–227.

Huang DB., Okhuysen PC., Jiang ZD., Du Pont LH., 2004: Enteroaggregative Escherichia coli: an emerging enteric pathogen. Am. J. Gastroenterol. **99**, 383-389.

Huff GR., Huff WE., Balog JM., Rath NC., 1999: Sex differences in the resistance of turkeys to Escherichia coli challenge after immunosuppression with dexamethasone. Poult Sci.**78**, 38-44.

Huff GR., Huff WE., Rath NC., Balog JM., 2000: Turkey osteomyelitis complex. Poult Sci. 79, 1050-1056.

Huys G., Cnockaert M., Janda JM., Swings J., 2003: Escherichia albertii sp. Nov., a diarroeagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children. *Int. J Syst Evol Microbiol*. **53**, 807-810.

I

ITELV., 2015 : Brochure des observations des filières avicoles algériennes : produits et intrants avicoles.

J

Jacoby GA., Munoz-Price LS., 2005: The new β-lactamases. N Engl J Med, 352:380-91.

Jarlier V., Nicolas MH., Fournier G., Phillipon A., 1988: Extended broad-spectrum b-lactamases conferring transferable resistance to newer b-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence | and susceptibility patterns. Rev Infect Dis,10: 867-878.

Johnson TJ., Siek KE., Johnson SJ., Nolan LK., 2006: DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmidencoded virulence genes among avian Escherichia coli strains. Journal of Bacteriology. 188, 745-758.

Joly B., Reynaud., 2003: Entérobactéries, systématiques et méthode de diagnostic. Monographie de microbiologie. 2éme édition. TEC & DOC. 356 pages.

Jordan FTW. Pattison M., 1996: Poultry diseases. W. B. Saunders Company: London, 38-43.

Joya J E., Tsuji T., Jacalne AV., Arita M., Tsukamoto T., Honda T., Miwatani T., 1990: Demonstration of enterotoxigenic Escherichia coli in diarrheic broiler chicks. *Eur J Epidemiol* 6:88—90.

K

Kaper JB., Nataro JP., Mobley HL., 2004: Pathogenic Escherichia coli. Nat. Rev. Microbiol. **2**, 123-140.

Katwa LC., White AA., 1992: Presence of fonctional receptors for the Escherichia coli heat-stable enterotoxin in the gastrointestinal tract of the chicken. Infect. Immun. **60**, 3546-3551.

Kean BH., 1986: Traveler's diarrhea: an overview. Rev. Infect. Dis. 8 Suppl **2**: S111-116.

Kim TE., Jeong YW., Cho SH., Kim SJ., Kwon HJ., 2007: Chronological study of antibiotic resistances and their relevant genes in Korean avian pathogenic *Escherichia coli* isolates.J. Clin. Microbiol. 45, 3309-3315.

L

La Ragione RM., Woodward MJM., 2002: Virulence factors of Escherichia coli serotypes associated with avian colisepticemia. Res in Vet Sci. **73**, 27-35.

Lachance J., Nadeau E., 2004 : Représentation schématique des étapes impliquées dans la pathogénie d'infection due à différent pathovars des E. coli chez les animaux. The *Escherichia coli* Laboratory, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal. **In: Gyles CL., Prescott JF., Songer JG., Thoen GO:** Pathogenesis of bacterial infections in animals. 3rd. Blackwell editions. USA. 465 pages.

Lafont JP., Bree A., Plat M., 1984: Bacterial conjugation in the digestive tracts of gnotoxenic chickens. *Appl Environ Microbiol* 47:639—642.

Lalioui L., Jouve M., Gounon P., Le Bouguenec C., 1999: Molecular cloning and characterization of the afa-7 and afa-8 gene clusters encoding afimbrial adhesions in Escherichia coli strains associated with diarrhea or septicemia in calves. Infect. Imm. **67**, 5048-5059.

Lalzampuia H., Dutta TK., Warjri I., Chandra R., 2014: Detection of extended-spectrum β-lactamases (*blaCTX-M-1* and *blaTEM*) in *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Klebsiella pneumoniae* isolated from poultry in North Eastern India. Veterinary World, 7(11): 1026-1031.

Lamarche MG., Dozois CM., Daigle F., Caza M., Curtiss R., 3rd, Dubreuil JD., Harel J., 2005: Inactivation of the pst system reduces the virulence of an avian pathogenic Escherichia coli O78 strain. Infection and Immunity. **73**, 4138-4145.

Lavigne JP., 2007 : Effets des antibiotiques et Mécanismes de résistances, Facultés de Médecine Montpellier, p: 1-3.

Le Bouguenec C., Bertin Y., 1999: Afa and F17 adhesins produced by pathogenic Escherichia coli strains in domestic animals. Vet. Res. **30**, 317-342.

Leibovitz L., 1972: A survey of the so-called "anatipestifer syndrome." *Avian Dis* 16:836—851.
Levine MM., 1984: Escherichia coli infections. In: **Germanier R.,** Bacterial vaccines, academic Press, New York, 187-235.

Levine MM., 1987: Escherichia coli that cause diarrhea. Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohemorragic, and enteroadherent. *J Inf Dis*. 155, 377-380.

Levine MM., Ferreccio C., Prado V., Cayazzo M., Abrego P., Martinez J., Maggi L., Baldini MM. Martin W., Maneval D.,Kay B., Guers L.,Lior H., Wasserman SS., Nataro PJ., 1993: epidemiologic studies of Escherichia coli diarrheal infections in a low socioeconomic level peri-urban community in Santiago, Chile .Am. J. Epidemiol. **138**, 849-869.

Livermore DM., 2008: Defining an extended-spectrum β-lactamase. Clin Microbiol Infect, 14:3-10.

Livermore DM., Canton R., Gniadkowski M., Nordmann P., Rossolini GM., Arlet G., Ayala J., Coque TM., Kern-Zdanowicz I., Luzzaro F., Poirel L., Woodford N., 2007: CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother, 59:165-74.

Livrelli V., Bonnet R., Joly B., Darfeuille-Michaud., 2007: *Escherichia coli* et autres Escherichia, Shigella. CH 54, p: 989-1004.**In Freney J., François R., Leclerq R., Riegek P**: Précis de bactériologie clinique.2éme édition. Editions ESKA. Pages : 1764.

M

Machado J., Grimont F., Grimont PAD., 1998: Computeur identification of *Escherichia coli* rRNA gene restriction patterns, Res. Microbiol. **149**, 119-135.

MacLeod DL., Gyles CL., Wilcock BP., 1991: Reproduction of edema disease of swine with purified Shiga-like toxin-II variant. Vet. Pathol. 28, 66–73.

Mainil JG., Gerardin J., Jacquemin E., 2000: Identification of the F17 fimbrial subunit- and adhesinencoding (f17A and f17G) gene variants in necrotoxigenic Escherichia coli from cattle, pigs and humans. Vet. Microbiol. **73**, 327-335.

Mainil JG., Jacquemin E., Herault F., Oswald E., 1997: Presence of pap-, sfa-, and afa-related sequences innecrotoxigenic Escherichia coli isolates from cattle: evidence for new variants of the AFAfamily. Can. J. Vet. Res. **61**, 193-199.

MAJO N., DOLZ R., 2012: Autopsie des volailles. Collection Atlas. Les éditions du point vétérinaire. 82 pages.

Malhotra R., 2013: Extended spectrum beta lactamases important resistance threat. International journal of scientific Research, vol 2, 11: 448-450.

Malik A., Tóth I., Beutin L., Schmidt H., Taminiau B., Dow MA., 2006: Serotypes and intimin types of intestinal and faecal strains of eae+ *Escherichia coli* from weaned pigs . Vet. Microbiol. 114, 82 – 93.

McPeake SJ., Smyth JA., Ball HJ., 2005: Characterization of avian pathogenic Escherichia coli (APEC) associated with colisepticaemia compared to faecal isolates from healthy birds. Veterinary Microbiology. 110, 245-253.

Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois CM., Curtiss III R., Brown PK., Arne P., Bree A., Desautels C., Fairbrother JM., 2003a : Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic Escherichia coli to serum and in pathogenicity. *Infection and Immunity*. 71, 536-540.

Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois CM., Curtiss III R., Lehoux B., Fairbrother JM., 2003b: Role of avian pathogenic Escherichia coli virulence factors in bacterial interaction with chicken heterophils and macrophages. *Infection and Immunity*. **71**, 494-503.

Mellata M., Touchman JW., Curtiss R., 2009 : Full sequence and comparative analysis of the plasmid pAPEC - 1 of avian pathogenic E. coli chi7122 (O78:K80:H9). PLoS ONE. 4: e4232.

Menard R., Dehio C., Sansonetti PJ., 1996: Bacterial entry into epithelial cells: the paradigm of Shigella. Trends Microbiol. **4**: 220-226.

Messaï CR., Khelef DJ., Boukhors KT., Radji N., Goucem R., Hamdi T-M., 2013: Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from broiler chickens affected by colibacillosis in Setif. Afr. J. Microbiol. Res. Vol. 7(21), pp. 2668-2672.

Milon A., Oswald E., De Rycke J., 1999: Rabbit EPEC: a model for the study of Enteropathogenic *Escherichia coli*. Vet. Res. 30, 203–219.

Moellering RCJr., 1995: Pharmacokinetics of vancomycin. J. Antimicrob. Chemother. 14 (Suppl.D): 43-52

Mogenet L., Fedida D., 2004: Rational antibiotherapy in poultry against atypical Mycobacteria. J Infect Dis,123 (2), 216-219.

Montgomery RD., Boyle CR., Lenarduzzi TA., Jones LS., 1999 : Consequences to chicks hatched from Escherichia coli-inoculated embryos. *Avian Dis* 43:553—563.

Moon BM., Won GY., Choi YY., Jin JK., Oh IG., Park JH., Eo SK., Lee JH., 2006: Isolation and characteristics of avian pathogenic Escherichia coli from birds associated with colibacillosis Chulalongkorn Uni. Fac. of Vet. Sc., Bangkok, Thailand, Proceedings of AZWMP.

Morishita TY., Bickford AA., 1992: Pyogranulomatous typhlitis and hepatitis of market turkeys. *Avian Dis* 36:1070—1075.

Morley AJ., Thomson DK., 1984: Swollen-head syndrome in broiler chickens. *Avian Dis* 28:238—243.

Moulin M., Coquerel A., 2002 : Pharmacologie Connaissance et Pratiques. 2éme édition. Edition Masson. Paris, pages 845.

Mutalib A., Miguel B., Brown T., Maslin W., 1996: Distribution of arthritis and osteomyelitis in turkeys with green liver discoloration. *Avian Dis* 40:661—664.

N

Naas T., Poirel L., Nordmann P., 2008: Minor extended-spectrum β-lactamases. Clin Microbiol Infect, 14:42-52.

Nagy B., Fekete PZ., 1999: Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet Res,* **30**, 259–284.

Nagy B., Fekete PZ., 2005: Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine . *Int. J. Me*d. Microbiol. **295**, 443 – 454.

Nakamura K., Abe F., 1987. Ocular lesions in chickens inoculated with Escherichia coli. *Can J Vet Res* 51:528—530.

Nakamura K., Cook JK., Frazier JA., Narita M., 1992: Escherichia coli multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or Escherichia coli. Avian Dis, **36**, 881-890.

Nataro JP., Kaper JB., 1998: Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 11, 142-201.

Nauciel C., Vildé JL., 2008 : Bactériologie médicale. 2éme éditions. Editions Masson. Page 257.

Naylor SW., Gally DL., Low JC., 2005: Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine .Int. J. Med. Microbiol. 295, 419 – 441.

Neal M., 2007 : Pharmacologie médicale. 3éme éditions. De Boeck. Paris, pages 80-85

Newberry LA., Skeeles JK., Kreider DL., Beasley JN., Story JD., McNew RW., Berridge BR., 1993: Use of virulent hemorrhagic enteritis virus for the induction of colibacillosis in turkeys. *Avian Dis* 37:1—5.

Nolan LK., Horne SM., Giddings CW., Foley SL., Johnson TJ., Lynne AM., Skyberg J., 2003: Resistance to serum complement, iss and virulence of avian Escherichia coli. *Vet Res,* Communications. **27**, 101-110.

Nolan LK., Wooley RE., Brown J., Spears KR., Dickerson HW., Dekich M., 1992a: Comparison of a complement resistance test, a chicken embryo lethality test, and the chicken lethality test for determining virulence of avian Escherichia coli. Avian Diseases, **36**, 395-397.

Nolan LK., Wooley RE., Cooper RK., 1992b: Transposon mutagenesis used to study the role of complement resistance in the virulence of an avian Escherichia coli isolate. Avian Diseases, **36**, 398-402.

O

Olkowski A A., Kumor L., Johnson D., Bielby M., Chirino Trejo M., Classen HL., 1999: Cellulitis lesions in commercial turkeys identified during processing. *Vet Rec* 145:228—229.

Olsen RH., Bisgaard M., Löhren U., Robineau B., Christensen H., 2014: Extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli isolated from poultry: a review of current problems, illustrated with some laboratory findings. Avian Pathology, Vol. 43, 3: 199–208.

Orskov F., Genus I., 1986: Escherichia Castellani and Chalmers, 1919, 941 AL. In: N. R. Krieg and J. G Hold (eds). Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol 1, The Williams and Wilkins Co, Baltimore

Orskov F., Orskov I., 1992: Escherichia coli serotyping and disease in man and animals. Can J Microbiol, **38**: 699-704.

P

Page C., Curtis M., Sutter M., Hoffman B., 1999: Traduction de la 1ère édition anglaise par Cheymol G. Pharmacologie intégrée, De Boeck. Paris. p : 419-460.

Pages J., 2004 : Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. Médecine/Sciences, 346-51

Palmer CC., Baker HR., 1923: Studies on infectious enteritis of poultry caused by Bacterium coli communis. J Am Vet Med Assoc. **63**, 85-96.

Paquet- Bouchard C., 2006: Caractérisation moléculaire de la protéine antibiotique P1 du phage AP205, maitrise en microbiologie-immunologie, Université Laval.

Parreira VR., Arns CW., Yano T., 1998: Virulence factors of avian Escherichia coli associated with swollen head syndrome. Avian Pathol. **27**, 148-154.

Parreira VR., Gyles CL., 2002: Shiga toxin genes in avian Escherichia coli.*Vet Microbiol*, **87**, 341-352.

Parreira VR., Gyles CL., 2003: A novel pathogenicity island integrated adjacent to the thrW tRNA gene of avian pathogenic Escherichia coli encodes a vacuolating autotransporter toxin. Infection and Immunity. **71**, 5087-5096.

Parreira VR., Yano T., 1998: Cytotoxin produced by Escherichia coli isolated from chickens with swollen head syndrome (SHS). *Vet Microbiol*, **62**, 111-119.

Paterson DL., Bonomo RA., 2005: Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev,18:657-86.

Pattison M., Chettle N., Randall CJ., Wyeth PJ.,1989: Observations on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. *Vet. Rec.*, **125**, 229- 231.

Perez F., Endimiani A., Hujer KM., Bonomo RA., 2007: The continuing challenge of ESBLs. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 7(5): 459-469.

Pfaff-McDonough SJ., Horne SM., Giddings CW., Ebert JO., Doetkott C., Smith MH., Nolan LK., 2000: Complement resistance-related traits among Escherichia coli isolates from apparently healthy birds and birds with colibacillosis. *Avian Dis*, **44**:23-33.

Pierson FW., Larsen CT., Domermuth CH., 1996: The production of colibacillosis in turkeys following sequential exposure to Newcastle disease virus or Bordetella avium, avirulent hemorrhagic enteritis virus, and Escherichia coli. *Avian Dis* 40:837—840.

Pilipcinec E., Tkacikova L., Naas HT., Cabadaj R., Mikula I., 1999: Isolation of verotoxigenic Escherichia coli O157 from poultry. *Folia Microbiol*, **44**, 455-456.

Pohl P., Mainil JG., 1995: F17 positive Escherichia coli. *Vet Res*, **137**, 623-624.

Pourbakhsh SA., Boulianne M., Martineau-Doize B., Fairbrother JM., 1997a: Virulence mechanisms of avian fimbriated Escherichia coli in experimentally inoculated chickens. *Vet Microbiol*, **58**, 195-213.

Pourbakhsh SA., Boulianne M., Martineau-Doize B., Dozois CM., Desautels C., Fairbrother JM., 1997b : Dynamics of Escherichia coli infection in experimentally inoculated chickens. Avian Dis **41**, 221-233.

Pourbakhsh SA., Dho Moulin M., Bree A., Desautels C., Martineau Doize B., Fairbrother JM., 1997c: Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic Escherichia coli. *Microbial Pathog*, **22**, 331-341.

Poyart C., 2003 : Résistances des bactéries aux Antibiotiques, In : Bactériologie générale. P.C.E.M.2. Faculté de médecine Necker-Enfants malades, p : 1-89

Pradel N., Livrelli V., De Champs C., Palcoux JB., Reynaud A., Scheutz F., Sirot J., Joly B., Forestier C., 2000: Prevalence and characterization of Shiga toxin-producin Escherichia coli isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. *J Clin Microbiol*, **38**: 1023-1031.

Provence DL., Curtiss III R., 1994: Isolation and characterization of a gene involved in hemaggltination by an avian pathogenic Escherichia coli strain. *Infect Immun*, 1369-1380.

Q

Quintiliani R Jr., Courvalin P., 1995: Mechanisms of resistance to antimicrobial agent. In " Manual of clinical microbiology" Edited by Murry et al., 6th Edition, American Society of Microbiology, Press, pp. 1308-1326.

Qureshi MA., Saif YM., Heggen-Peay CL, Edens FW., Havenstein GB., 2001: Induction of functional defects in macrophages by a poult enteritis and mortality syndrome- associated turkey astrovirus. *Avian Dis* 45:853—861.

R

Rahimi M., 2013: Antibioresistance Profile of *Avian pathogenic Escherichia coli* Isolates Recovered from Broiler Chicken Farms with Colibacillosis in Kermanshah Province, Iran Global Veterinaria 10 (4): 447-452.

Randall LP., Clouting C., Horton RA., Coldham NG., Wu G., Clifton-Hadley FA., Davies R H., Teale CJ., 2010: Prevalence of *Escherichia coli* carrying extended- spectrum beta-lactamases (CTX-M and TEM-52) from broiler chickens and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. *J. Antimicrob. Chemother.,* 66(1): 86-95.

Rangel JM., Sparling PH., Crowe C., Griffin PM., Swerdlow DL., 2005: Epidemiology of Escherichia coli O157: H7 outbreaks, United States, 1982-2002. Emerg. *Infect Dis*, **11**, 603-609.

Rasmussen BA., Bradford PA., Quinn JP., Wiener., Weinstein RA., Bush K., 1993: Genetically diverse ceftazidime-resistant isolates from a single center: biochemical and genetic characterization of TEM-10 betalactamases encoded by different nucleotide sequences. Antimicrob. Agents Chemother. **37:**1989–1992.

Reich F., Atanassova V., Klein G., 2013: Extended-spectrum β-lactamase- and AmpC-producing enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. Emerging Infectious Diseases 19, 1253–1259.

Richard C., 1989: Bactériologie et épidémiologie des souches typiques, atypiques et potentiellement pathogènes d'Escherichia coli. Information du Technicien biologiste **2**: 45-52.

Robineau B., Moalic PY., 2010: Une maladie d'actualité en production aviaire: La colibacillose. *Bull Acad Vét France*, tome **163** - n°3.

Rodriguez-Siek KE., Giddings CW., Doetkott C., Johnson, TJ., Nolan, LK., 2005: Characterizing the APEC pathotype. Vet. Res. **36**, 241-256.

Rossolini GM., D'Andrea MM., Mugnaioli C., 2008: The spread of CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases. Clin Microbiol Infect,14(Suppl. 1):33-41.

S

Saberfar E, Pourakbari B., Chabokdavan K., Taj Dolatshahi F, 2008: Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Iranian broiler chicken flocks, 2005–2006. *J Appl Poult Res.* 17,302–304.

Salvadori MR., Yano T., Carvalho HF., Parreirav R., Gyles CL., 2001: Vacuolating cytotoxin produced by avian pathogenic Escherichia coli. *Avian Dis*, **45**, 43-51.

Sanders P., 2005: L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. Bull. Acad. Vét. France. Tome 158 - N°2, 137 -143.

Schawarz S., Chaslus-Dancla E., 2001: Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res*, **32** (3-4), 201-225.

Schouler C., Schaeffer B., Brée A., Mora A., Dahbi G., Biet F., Oswald E., Mainil J., Blanco J., Moulin-Schouleur M., 2012: Diagnostic Strategy for Identifying Avian Pathogenic *Escherichia coli* Based on Four Patterns of Virulence Genes. Journal of Clinical Microbiology, 1673–1678.

Schwan WR., Lee JL., Lenard FA., Matthews BT., Beck MT., 2002: Osmolarity and pH growth conditions regulate fim gene transcription and type 1 pilus expression in Uropathogenic Escherichia coli. *Infect Immun*, **70**, 1391-1402.

Sköld O., 2001: Résistance to trimethoprime and sulphonamides. *Vet Res*, **32** (3-4), 261-273.

Skyberg JA., Johnson TJ., Johnson JR., Clabots C., Logue CM., Nolan, LK., 2006: Acquisition of avian pathogenic Escherichia coli plasmids by a commensal E. coli isolate enhances its abilities to kill

chicken embryos, grow in human urine, and colonize the murine kidney. *Infection and Immunity*, **74**, 6287-6292.

Sojka WJ., Carnaghan RB A., 1961: Escherichia coli infection in poultry. Res. Vet. Sci. **2**, 340-353.

Soumaila Garba A., 2012 : Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isoles des cas de colibacilloses aviaires au Sénégal. Thèse pour diplôme d'état de Docteur en Medecine vétérinaire. Université cheikh anta diop de dakarecole inter-etats des sciences et medecine vétérinaires de Dakar (E.I.S.M.V). 79 pages**.**

Standardisation de l'Antibiogramme en Médicine Humaine et Vétérinaire à l'Echelle Nationale, selon les recommandations de L'OMS, 7éme édition, 2014. http://www.sante.dz/aarn/publications.htm

Stordeur P., Beaupain N., Mainil J., 2003 : Caractérisation génotypique de souches invasives aviaires d'Escherichia coli isolées en Belgique. *Ann Méd Vét,* **147**, 275-280.

Stordeur P., Mainil J., 2002 : La colibacillose aviaire. *Ann Méd Vét*, **146**, 11-18.

Stordeur P., Marlier D., Blanco J., Oswald E., Biet F., Dho-Moulin M, Mainil J., 2002: Examination of Escherichia coli from poultry for selected adhesin genes important disease caused by mammalian pathogenic E. coli. *Vet Microbiol*, **84**, 231- 241.

Su C., Brandt LJ., 1985: Escherichia coli O157: H7 infection in humans. *Ann Int Med*, **123**, 698-714.

Sukupolvi S., O'Connor D., Ma¨kela¨ PH., 1987 : The effects of traT insertion mutations on detergent sensitivity and serum resistance of Escherichia coli and Salmonella typhimurium. *FEMS Microbiology Letters*, **43**, 81-87.

T

Tankovic J., Duval J., 2007: Mécanismes d'action des antibiotiques in Médecine thérapeutique, Vol 3, hors série, p : 37-69.

Tap J., 2004 : Caractérisation moléculaire des *Escherichia coli* O111et diversité des souches isolées en France. Rapport de stage. Unité Biodiversité Bactéries Pathogènes Emergentes. Centre national de référence des *Escherichia coli* et *Shigell.1-39 pages.*

Tate, C. R., W. C. Mitchell, and R. G. Miller. 1993. Staphylococcus hyicus associated with turkey stifle joint osteomyelitis. *Avian Dis* 37:905—907.

Tenson T,. Lovmar M., Ehrenberg M., 2003: The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome. *J Mol Biol*, **330** (5), 1005-1014.

Teshager T., Dominguez L., Moreno MA., Saenz Y., Torres C., Cardenosa S., 2000: Isolation of an SHV-12 beta-lactamase-producing Escherichia coli strain from a dog with recurrent urinary tract infections. Antimicrob Agents Chemother,44: 3483–3484.

Tortura GJ., Funke BR., Case CL., 2003: Introduction à la Microbiologie. Adaptation française par Louis Martin, 7éme édition. Canada : Bibliothèque nationale du Canada, p : 945.

Toth TE., Siegel PB., 1986 : Cellular defense of the avian respiratory tract: paucity of free - residing macrophages in the normal chicken . *Avian Dis,* 30 : 67 – 75 .

V

Vaillancourt JP., 2009 : Une approche régionale à la biosécurité: l'exemple avicole. *Bull Acad Vét France,* Tome 162 - N°3, p: 257-264

Van Den Bogaard AE., London N., Driessen C., Stobberingh EE., 2001: Antibiotic resistance of faecal Escherichia coli in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J Antimicrob Chemothe,*. 47, 763-771.

Van den Hurk JV., Allan BJ., Riddell C., Watts T., Potter AA., Van den Hurk JV., 1994: Effect of infection with hemorrhagic enteritis virus on susceptibility of turkeys to *Escherichia coli. Avian Dis* 38:708—716.

Vidotto MC., Cacao JM., Goes CR., Santos DS., 1991: Plasmid coding for aerobactin production and drug resistance is involved in virulence of Escherichia coli avian strains. Braz. *J Med Biol Res*, **24**, 677-685.

Vidotto MC., Müller EE., De Freitas JC., Alfieri AA., Guimaraes IG., Santos DS., 1990: Virulence factors of avian Escherichia coli. *Avian Dis*, **34**, 531-538.

Villate D., 1997 : Maladies des volailles, Manuelle pratique, Edition France agricole, Paris, France.

Villate D., 2001: Maladies des volailles. Manuel pratique. 2éme édition. Editions France Agricole. 399 pages.

W

Wang Y., Tang C., Yu X., Xia M., Yue H., 2010: Distribution of serotypes and virulence-associated genes in pathogenic *Escherichia coli* isolated from ducks". Avian Pathol. Aug; 39(4):297-302.

Wasyl D., Hoszowski A., Zajac M., Szulowski K., 2013: Antimicrobial resistance in commensal Escherichia coli isolated from animals at slaughter. Frontiers in Microbiology, 4, 221: 1-12.

Weldhagen GF., Poirel L., Nordmann P., 2003: Ambler class A extended-spectrum β-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. Antimicrob Agents Chemother, 47:2385-92.

White DG., Wilson RA., San Gabriel A., Saco M., Whittam., 1990: Genetic relationships among strains of avian *E. coli* associated with swollen head syndrome. *Infect. Immun.*, **58**, 3613-3620.

Williams PH., 1979: Novel iron uptake system specified by ColV plasmids : an important component in the virulence of invasive strains of Escherichia coli. Infect. Immun. **26**, 925-932.

Willis C., 2000: Antibiotics in the food chain: Their impact on the consumer. *Rev. Med. Microbiol.*, 11: 153-160.

Wooley RE., Gibbs PS., Brown TP., Maurer JJ., 2000: Chicken embryo lethality assay for determining the virulence of avian Escherichia coli isolates. *Avian Dis*, **44**, 318- 324.

Wooley RE., Nolan LK., Brown J., Gibbs PS., Giddings CW., Turner KS., 1993: Association of K-1 capsule, smooth lipopolysaccharides, traT gene, and Colicin V production with complement resistance and virulence of avian Escherichia coli. Avian Diseases. **37**, 1092-1096.

Y

Yalla D., Merad AS., Mohamdi D., Ouarkorich MN., 2001 : Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. **91**, 1-11.

Yang H., Chen S., White DG., Zhao S., McDermott P., Walker R., Meng J., 2004: Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *J Clin Microbiol*. 42, 3483–3489.

Yeni P., 2003 : Pathologie Infectieuse. Médecine Science, 3éme édition, Flammarion. Paris, p : 237-246.

Yogaratnam V., 1995: Analysis of the causes of high rates of carcase rejection at a poultry processing plant. *Vet Rec*, **137**, 215-217.

Z

Zahraei Salehi T., Farashi Bonab S., 2006: Antibiotics susceptibility pattern of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticemia in Tabriz Province, Iran. International Journal of Poultry Science 5 (7): 677-684.

Zanella A., Alborali GL., Bardotti M., Candotti P., Guadagnini PF., Martino A, P., Stonfer M., 2000: Severe *Escherichia coli septicemia* O111 septicaemia and polyserositis in hens at the start of lay. Avian *Pathology*,
29, 311-317.

Zhang W., Bielaszewska M., Bockemühl J., Schmidt H., Scheutz F., KarchH ., 2000: Molecular analysis of H antigens reveals thathumain diarrheagenic *Escherichia coli* O26 strains that carry the "*eae*" gene belong to the H11 clonal complex. *J Clini Microbiol*, **8**: 2989-2993.

Zhao S., Maurer JJ., Hubert S., De Villena JF., McDermott PF., Meng J., Ayers S., English L, White DG., 2005: Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic Escherichia coli isolates. *Vet Microbiol.* 107,215–224.

Zhu C., Harel J., Jacques M., Desautels C., Donnenberg MS., Beaudry M., Fairbrother JM., 1994: Virulence properties and attaching-effacing activity of *Escherichia coli* O45 from swine postweaning diarrhea. *Infect Immun*, **62**, 4153–4159.

Zhu C., Harel J., Jacques M., Fairbrother JM., 1995: Interaction with pig ileal explants of *Escherichia coli* O45 isolates from swine with postweaning diarrhea. *Can J Vet Res*, **59**,118–123.

Annexes

ANNEXE I

Tableau I: Caractères biochimiques, différentiels des principalesespèces du genre Escherichia (Bettelheim, 2002 ; Huys *et al*., 2003 ; Abbott *et al.,* 2003 ; Euzéby, 2005).

	E. coli	***E. hermannii***	***E. vulneris***	***E. fergusonii***	***E. albertii***	***E. blattae***
Pigment jaune	-	+	d	-	-	-
Mobilité (36°C)	+	+	+	+	-	-
ONPG	+	+	+	d+	+	-
Indole	+	+	-	+	-	-
LDC	+	-	+	+	+	+
ODC	d+	+	-	+	+	+
ADH	d	-	d	-	-	-
Citrate de Simmons	-	-	-	-	-	d
Croissance en KCN	-	+	-	-	-	-
Hydrolyse de l'esculine	d	D	d	d	d**	-
Utilisation du :						
malonate	-	-	+	d	-	d*
Acétate	+	d+	d	+	+	-
Fermentation du :						
adonitol	-	-	-	+	-	-
D-arabitol	-	-	-	+	-	-
cellobiose	-	+	+	+	-	-
dulcitol	d+	d	-	d+	-	-
glycerol	d+	-	d	d	+**	+
lactose	+	d-	-	-	-	-
maltose	+	+	+	+	d	+
D-mannitol	+	+	+	+	+	-
mélibiose	d+	-	+	-	-	-
raffinose	d	d	+	-	-	-
L-rhamnose	d+	+	+	+	-	+
saccharose	d	d	-	-	-	-
salicine	d	d	d	d+	-	-
D-sorbitol	+	-	-	-	-	-
tréhalose	+	+	+	+	d	d+
D-xylose	+	+	+	+	-	+

+: au moins 85 % des souches donnent un résultat positif.

- : au moins 85 % des souches donnent un résultat négatif

d : résultat positif pour 16 à 50 % des souches.

d+ : résultat positif pour 51 à 84 % des souches.

d- : résultât négatif pour 51 à 84 % des souches.

ANNEXE II



Figure I: Milieu Mac conkey et gélose nutritif (Photo personnelle)



Figure II :

Huile de vaseline et flacon d'eau distillé stériles (Photo personnelle)



Figure III:
Réactifs additionnées pour la lecture de la galerie API 20 E après incubation(Photo personnelle)

Tableau II : Tableau de lecture API 20 E

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0.223	B-galactosidase (Ortho NitroPhenil-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1.9	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
LDC	L-lysine	1.9	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
ODC	L-ornithine	1.9	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
CIT	Trisodium citrate	0.756	Utilisation du citrate	Jaune	Bleu-vert/Bleu (3)
H_2S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H2S	Vert pâle/jaune	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	0.76	Uréase	Incolore/grisâtre	Rouge/orangé (2)
TDA	Tryptophane	0.38	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat	
				jaune	Marron-rougeâtre
IND	Tryptophane	0.19	Production d'indole	James/ immédiat	
				Incolore vert pâle/ jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP1+VP2/ 10 min	
				Incolore/rose pâle	Rose / rouge (5)
GEL	Gélatine (origine bovine)	0.6	Gélatinase (gélatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1.9	Fermentation/oxydation (Glucose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D- mannitol	1.9	Fermentation/oxydation (Mannitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1.9	Fermentation/oxydation (Inositol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentation/oxydation (Sorbitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1.9	Fermentation/oxydation (Rhamnose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1.9	Fermentation/oxydation (Saccharose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1.9	Fermentation/oxydation (Melibiose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0.57	Fermentation/oxydation (Amygdaline) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1.9	Fermentation/oxydation (Arabinose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre		Cytochrome-oxydase	Ox/ 5-10 mn	
				Incolore	Anneau violet

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.

(2) Une très légère couleur jaune est également positive.
(3) Une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative.
(4) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
(5) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
(6) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

ANNEXES III :

Suite table de lecture 21 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries* (En médecine vétérinaire)

Antibiotiques testés	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Sulfisoxazole	300 µg	≤12	13-16	≥17	≥512	-	≤256	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	<10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38	La valeur ≤2/38 peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire.
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Le test de sensibilité à la tétracycline est valable pour tester la sensibilité aux chlortétracyclines, doxycyclines et oxytétracyclines .Les organismes sensibles à la tétracycline sont aussi considérés comme sensibles à la doxycycline mais certains organismes classés comme intermédiaires ou résistants à la tétracycline peuvent être sensibles à la doxycycline ou à la minocycline ou aux deux.
Acide nalidixique/ fluméquine	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	-	≤16	La réponse pour l'acide nalidixique est valable pour la fluméquine
Enrofloxacine	5 µg	≤16	17-20	≥21	≥2	0,5-1	≤0,25	
Aviaire (poulet et dinde)	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥2	0,5-1	≤0,25	
Espèce féline et canine	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5	
Marbofloxacine (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 µg	≤14	15-19	≥20	≥4	2	≤1	
Colistine	10 µg	≤10	-	≥11	-	-	-	
Nitrofurantoine**	300 µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	
Chloramphénicol**	30 µg	≤12	13-17	≥18	32≥	16	≤8	

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved standard –Third Edition M31-A3 .Vol.28 N° 8.Replaces M31-A2 .Vol.22 N°6.February 2008.
Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals;Approved Standard-Second Edition, NCCLS document M31-A2 .Vol.22 N°06 May 2002.
*Antibiotique testé seulement pour la recherche des β-lactamases
** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiosurveillance

ANNEXES IV :

Compositions des Milieu utilisés :

1) Milieu d'enrichissement :

BHIB (BRAIN HEART INFUSION BROTH):

- Cœur de bœuf 5g
- Cervelle de veau 12,5 g
- Glucose 2g
- Peptone 10g
- Chlorure de sodium 5g
- Sodium dihydrgenophosphore 2,5g
- Eau distillée 1L
- pH = 7,4

2) Milieux d'isolement :

a- Gélose Mac Conkey:

Milieu d'isolement des entérobactéries et permet la différentiation des bactéries lactose +, l'aspect des colonies *d'E. coli* sont rouges ou rose, pas mucoïde peut-être ronde avec un précipitas opaque de sels biliaires.

Composition :

- Gelysate 17g
- Polypeptone 3g
- Lactose 10g
- Sels biliaires 5g
- Chlorure de sodium 5g
- Gélose 12,5g
- Rouge neutre 0,04
- Ph = 7,4

b- Gélose nutritive:

Ce milieu convient à la culture des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières, on l'utilisepour l'isolement d'un germe afin d'assurer sa pureté.

Composition :

- Peptone 15g
- Extrait de viande 1g
- Nacl 5g
- Agar 15g
- Eau distillée 1L
- pH = 7

3) Milieu pour antibiogramme :

Mueller Hinton :

Utilisé pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes.

Composition :

- Extrait de viande 3g
- Hydrolysat acide de caséine 17,5g
- Amidon 1,5g
- Agar 16g
- Eau distillée1L
- pH = 7,3

N°	Amoxicilline-Ac	Ampicilline	Gentamicine	Néomycine	Trimethoprime/sulfa	Colistine sulfate	Nitrofurane	Chloramphénicol	Acide nalidixic	Enrofloxacine	Tétracycline	TAXON
	AUG	AMP	CN	N	SXT	CS	F	C	NA	ENR	TE	
	≤ 13 - ≥ 18	≤13 - ≥17	≤12 - ≥15	≤13 - ≥18	≤10 - ≥16	≤ 10 - ≥11	≤14 - ≥17	≤12 - ≥18	≤13 - ≥19	≤16 - ≥21	≤14 - ≥19	
1	I	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	E.coli 1
2	R	R	S	I	S	S	S	S	R	I	R	E.coli 1
3	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	C. brakii
4	I	I	S	I	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
5	S	I	S	S	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
6	S	S	S	S	R	S	I	S	R	R	R	E.coli 1
7	R	R	S	I	R	S	S	R	R	R	R	E.coli 1
8	S	I	S	S	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
9	I	I	S	S	S	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
10	S	R	S	S	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
11	I	I	S	R	R	S	S	S	R	I	R	E.coli 1
12	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
13	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
14	R	I	S	S	S	S	I	S	R	R	R	E.coli 1
15	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	E.coli 1
16	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S	R	E.coli 1
17	R	R	S	I	S	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
18	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S	R	E.coli 1
19	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S	R	E.coli 1
20	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S	R	E.coli 1
21	R	R	S	S	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
22	R	R	S	I	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
23	R	R	S	S	R	S	S	S	I	I	I	E.coli 1
24	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
25	I	S	S	S	R	S	S	I	R	R	R	E.coli 1

N°	Amoxicilline-Ac	Ampicilline	Gentamicine	Néomycine	Trimethoprime/sulfa	Colistine sulfate	Nitrofurane	Chloramphénicol	Acide nalidixic	Enrofloxacine	Tétracycline	TAXON
	AUG	AMP	CN	N	SXT	CS	F	C	NA	ENR	TE	
	≤ 13 - ≥ 18	≤13 - ≥17	≤12 - ≥15	≤13 - ≥18	≤10 - ≥16	≤ 10 - ≥11	≤14 - ≥17	≤12 - ≥18	≤13 - ≥19	≤16 - ≥21	≤14 - ≥19	
26	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
27	R	R	S	I	R	S	S	S	R	S	R	E.coli 1
28	R	R	S	S	R	S	S	S	R	I	R	E.coli 1
29	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S	R	E.coli 1
30	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
31	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
32	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
33	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
34	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
35	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	E.coli 1
36	R	R	S	I	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
37	S	R	S	S	R	S	S	R	R	I	R	E.coli 1
38	S	R	S	R	R	S	I	S	R	R	R	E.coli 1
39	S	R	S	R	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
40	S	I	S	R	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
41	S	R	S	R	R	S	I	S	R	I	R	E.coli 1
42	S	R	S	R	R	S	I	S	R	R	R	E.coli 1
43	S	R	S	R	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1
44	S	R	S	R	R	S	I	S	R	R	R	E.coli 1
45	S	R	S	R	R	S	S	S	R	I	R	E.coli 1
46	S	R	S	R	R	S	S	S	R	I	R	E.coli 1
47	S	R	S	R	R	S	I	S	R	I	R	E.coli 1
48	S	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
49	S	R	S	R	R	S	S	S	R	I	R	E.coli 1
50	S	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	E.coli 1
51	S	R	S	R	R	S	R	S	R	R	R	E.coli 1