

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA



FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIE
PRODUCTION ET NUTRITION ANIMALE

Réf :

MEMOIRE DE MASTER

Thème :

Recherche des souches d'Escherichia coli résistantes aux antibiotiques au niveau des élevages de poulet de chair de la wilaya de Biskra.

Présenté et soutenu par :

Ghoufi hayette

Jury :

Président : Dr Guergueb N,

Encadrant : Dr Hana Nedjma **BELABED** .

Examineur : Dr Lamouri

Année universitaire : 2023-2024

REMERCIEMENT

Ce mémoire est le fruit des efforts fournis et des sacrifices consentis par plusieurs personnes que nous ne pourrions pas oublier de remercier.

Nos remerciements s'adressent d'abord à Dieu, créateur de toutes choses, et tous ses innombrables bienfaits.

Aussi, nous remercions notre promotrice de mémoire, madame **Hana Nedjma BELABED** d'avoir acceptée de nous encadrer dans la conception et l'élaboration de ce travail, et aussi pour le dévouement manifesté malgré toutes ses nombreuses occupations.

Nous tenons également à exprimer notre gratitude envers notre chef de département, Mme **Naima MEBREK**, ainsi que son adjointe, Mme **Lamya OUZZIR**. Nous remercions également **M. Azzedine HICHER**, notre chef de spécialité, pour son soutien et sa contribution précieuse.

Nous aimerions exprimer notre sincère gratitude aux ingénieurs de laboratoire de notre département. Leur expertise, leur soutien et leur dévouement tout au long de notre travail

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers **M. Adel MELKMI**, vétérinaire, pour son aide. Nous tenons également à remercier chaleureusement **Madame GUERGUEB** pour sa généreuse ouverture de laboratoire (**EL HAYET**) et son soutien inestimable tout au long de notre expérience.

Nos vifs remerciements vont aux membres de jury pour avoir accepté de juger notre travail

Enfin, que tous ceux qui, de loin ou de près, ont participé à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de notre sincère gratitude.

DEDICACE

Je dédiee modeste travail à **mon père** pour tous les sacrifices qu'il a consenti pour moi, pour tout ce qu'il a fait pour que j'aboutisse à ce jour.

Je fais une dédicace spéciale aussi à celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage, à toi chère **maman** toutes mes joies, mon amour et ma connaissance.

A mon cher mari **mohammed salah**, qu'était mon bon assistant tout au long de mon travail, il m'a encouragé et m'a soutenue jusqu'au dernier point, que dieu le préserve et paies es pas.

A ma chère mon fils **Khalil abdelkarim**, qu'ALLAH la préserve et la prépare.

A ma chère filles **Nour el-houda** et **Tesnim maroua**, qu'ALLAH la préserve et la prépare.

Et surtout mon seul sœur **Hanane** pour sons ou tien de moral.

Mes frère **mohamed**, **salah** et **mehdi**.

Et toute la famille **Ghoufi** et **Meddour**.

Liste Des Abréviation :

- ADN : Acide désoxyribonucléique .
- Ag: Antigène .
- AK : Amikacin
- AM : Ampicilline
- AMC : Amoxicilline /acide clavulanique .
- AMP: Ampicilline .
- APEC: Avian pathogenic *Escherichia coli* .
- API 20 E : Appareillage et Procédé d'Identification.
- ARN : Acide ribonucléique.
- ATB: Antibiotique.
- CTX : cefotaxine
- E. coli: *Escherichia coli*.
- EUCAST : European society of clinical microbiologie and infection diseases
- F : Nitrofurantoin
- FAO-OMS : l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et de l'Organisation mondiale de la santé (OMS).
- GM : Gentamycine
- h: heure.
- H₂S : Sulfure d'hydrogène.
- I : Intermediaire .
- IMP : Imipenème.
- LDC : Lysine décarboxylase.
- LPS : lipopolysaccharide
- μ m : micromètre
- mcg/disc : microgramme par disque.
- ODC : Ornithine de carboxylase

- OMS : organisation mondiale de la santé.
- PH : Potentiel d'hydrogène.
- R : Résistant.
- S : Sensible.
- SARM : les Staphylococcus aureus résistants à la méthicilline
- SXT : Cotrimoxazole
- TDA : Tryptophane Des aminase .

Liste des tableaux :

1. Tableau 1 : Tableau récapitulatif des antibiotiques utilisés en aviculture (Bensemmane,et al 1992) , (P23) .
2. Tableau 2 : Les d'antibiotiques choisit dans notre étude.(P40).
3. Tableau 3 : Les résultats positif et les résultats négatifs. (P41).
4. Tableau 4 : les résultats de l'antibiogramme. (P44).
5. Tableau 5 : Fréquences des résistances des isolats d'*E. coli* aux antibiotiques. (P45).

Liste des figures :

1. Figure 1 : Structure de la membrane des bactéries à Gram négatif (SZALOTAMINIAU et MANIL J,2006) (P07)
2. Figure 2:Colonies lactose positives d'*E.coli* sur gélose MacConkey(Hans, 2015). (P08)
3. Figure 3 :Observation microscopique d'*Escherichia coli* (6,836×) dans le microscope électronique (Janice .H , sd). (P09)
4. Figure4 :Les différents mécanismes de transfert horizontal des gènes de résistance (Chardon et Brugere , 2014). (P26)
5. Figure 5 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative, adapté de Guard abassi et Courvalin 2006) (P27)
6. Figure 6 : Carte géographique de la wilaya de Biskra. (P32)
7. Figure 7 : Autopsié réalisé sur un poulet de chaire. (P33)
8. Figure 8 : Image des boites de prélèvement (P34)
9. Figure 9 : L'aspect macroscopique des colonies E.coli sur milieu Macconkey (photo personnelle) (P35)
10. Figure 10: L'aspect macroscopique des colonies E.coli sur milieu Hektoen(photo personnelle) (P35)
11. Figure 11 : L'aspect macroscopique des colonies E.coli sur milieu nutritif (photo personnelle) (P36)
12. Figure 12 : Coloration de Gram_. (P36)
13. Figure 13 : Préparation de la galerie et antibiogramme. (P37)
14. Figure 14 : Application des disques d'antibiotiques et incubation (P38)
15. Figure 15 : Un pied à coulisse (P39) .
16. Figure 16 : Mesuré les diamètres des zones d'inhibition (P39) .
17. Figure 17 : Automate d'identification microbiologique VITEK. (P40) .
18. Figure 18 : Les résultat positifs et les résultats négatifs. (P41) .
19. Figure 19 : Résultat du teste catalase positive (+) des souches de Ecoli. (P42) .
20. Figure 20 : Aspect microscopique de la coloration de Gram. (Photo personnelle) (P42) .
21. Figure 21 : Profil de E coli sur la galerie Api 10S (P43) .
22. Figure 22 : Antibiogramme après incubation de 24h à 37°C. (P44) .
23. Figure 23 :Fréquences des résistances des isolats d'*E.coli* aux antibiotiques (P45).

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction :	1
----------------------	---

Chapitre I : Aviculture en Algérie

1. Historique:	3
2. Evolution d'aviculture en Algérie:	3
3. Les contraintes de l'aviculture:	3

Chapitre II : Escherichia coli

1.1. Historique :	6
1.2. Habitat :	6
1.3. Structure :	6
1.4. Taxonomie d'Escherichia coli :	7
1.5. Caractères morphologiques :	8
1.6. Caractères culturels :	8
1.7. Caractères biochimiques :	9
1.8. Caractères antigéniques :	10
1.9. Résistance aux agents physiques et chimiques :	11
2. Classification des souches :	11
2.1 Pathovars responsables d'infections intestinales :	11
2.1.1. Les Escherichia coli entéro-pathogènes(EPEC) :	11
2.1.2. Les Escherichia coli entéro-toxinogènes(ETEC) :	12
2.1.3. Les Escherichia coli entéro-invasifs (EIEC) :	13
2.1.4. Les Escherichia coli à adhérence diffuse (DAEC) :	13
2.1.5. Les Escherichia coli entéro-hémorragiques(EHEC) :	13
2.1.6. Les Escherichia coli entéro-agrégatifs(EAaggEC) :	14
2.2. Pathovars à infections extra- intestinales :	14
2.2.1. Les Escherichia coli pathogènes aviaire(APEC) :	14
2.2.1.1. Facteurs de virulences associés aux APEC :	15

2.2.1.2. Sérotypes :	18
2.2.1.3. Distribution environnementale :	19

Chapitre III : Les antibiotiques et L'antibiorésistance

• Les antibiotiques :	20
1. Définition :	20
2. Historique :	20
3. Classification :	21
4. L'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire :	22
• L'antibiorésistances :	23
1. Définition :	23
2. Transfert horizontal de gènes (HGT) :	24
2.1 La Transformation . :	25
2.2 La conjugaison bactérienne :	25
2.3 La Transduction :	26
2.3.1 Transduction généralisée :	26
2.3.2 Transduction spécialisée :	26
3. Mécanismes de résistance :	27
3.1 Inactivation enzymatique de l'antibiotique :	27
3.2 Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique :	28
3.3 Pompes à efflux :	28
3.4 Perméabilité réduite :	29
3.5 Protection de la cible de l'antibiotique :	30
3.6 Piégeage de l'antibiotique :	31

Chapitre IV : Etude Expérimentale

1. Matériels et méthodes :	32
1.1 Matériels :	33
1.2 Méthode :	33
1.2.1 Prélèvement :	33
1.2.2 Isolement :	34
1.2.3 Purification :	35
1.2.4 Identification :	35
1.2.4.1 Macroscopique :	35
1.2.4.2 Microscopique :	36
1.2.4.3 Biochimique :	37

1.2.5	Antibiogramme :	38
1.2.6	Lecture :	39
2.	Résultats et Discussion :	41
2.1	Résultats :	41
2.2	Discussion :	46
	Conclusion et Recommandations	
	Références bibliographiques	
	Annexe	
	Résumé	

Introduction

Depuis les années 70, l'industrie avicole en Algérie a connu une croissance remarquable, principalement grâce aux investissements provenant des secteurs public et privé. (Kaci, 2015)

L'intensification de la filière aviaire présente des problèmes sanitaires dus au manque de professionnalisme des éleveurs et à leur ignorance des règles d'hygiène fondamentales. Cela favorise l'émergence de diverses maladies.

Les infections à *Escherichia coli* chez la volaille sont connues à l'échelle mondiale, elles sont responsables d'énormes pertes économiques dans le secteur avicole et constituent l'une des principales causes de saisie au niveau des abattoirs. (Barnes et al, 2003).

L'efficacité remarquable des antibiotiques s'est accompagnée de leur utilisation massive et répétée en surtout dans le secteur avicole a généré une pression sur les bactéries, qui ont développé des systèmes de défense contre ces antibiotiques, conduisant à l'apparition de résistance.

.Ces dernières années en Algérie plusieurs études ont rapporté l'isolement des souches d'*E. coli* qui montrent une résistance au plusieurs familles d'antibiotiques. (Guergueb N, 2024 , Aberkane,2023, Lamouri ,2018).

La survenue d'infections à *E. coli*, intraitables par des antibiotiques n'est plus une simple menace pour l'avenir mais une réalité actuelle. Pouvoir limiter ou du moins maîtriser cette problématique, nécessite une meilleure compréhension des mécanismes d'acquisition de résistance aux antibiotiques afin de mieux contrôler sa dissémination et pour une meilleure prise en charge thérapeutique (Ayad, 2017).

Ce travail a pour objectif d'étudier la sensibilité des souches d'*E.coli* isolé vis-à-vis différents familles d'antibiotiques isolées des élevages de poulet de chair au niveau de la région de Biskra.

Introduction

Notre manuscrit est structuré en quatre chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est : consacré à la généralité sur l'aviculture e en Algérie.
- ✓ Le deuxième chapitre est : consacré à la généralité Sur Escherichia coli
- ✓ Le troisième chapitre est : consacré à la généralité des antibiotiques et l'antibiorésistance.
- ✓ Le quatrième chapitre consacré à l'étude expérimentale

Chapitre I :
Aviculture
en
Algérie

1. Historique:

La filière avicole prend sa place en Algérie depuis les années 1970 par la mise en œuvre d'une politique avicole initiative pour résorber le déficit senti en protéines animales dans le modèle alimentaire algérien . Cette politique se traduit par la mise en place des offices nationaux (ONAB, ORAC, ORAVIO, ORAVIE) , et par la suite , le secteur privé prend sa place dans le modèle avicole intensif (**Barka Mohammed salih , 2000**) .

Au lendemain de l'indépendance (1962) jusqu'en 1970, l'aviculture était essentiellement fermière sans organisation particulière. Une première enquête nationale réalisée en 1966-67, faisait apparaître que la ration contenait 7,8 gr/jour de protéines animales; une seconde enquête effectuée en 1979-1980 estimait 13,4 gr/jour de protéines animales dans la ration, ce qui se rapproche des recommandations de la FAO-OMS fixées pour les pays en voie de développement à 16 gr/Jour. (**Alain BODERING, Guelmbaye NDOUTAMIA, Bongo Nare NGANDOLO et Albert NGAkou, 2017**).

2. Evolution d'aviculture en Algérie:

L'aviculture en Algérie a connu une importante évolution au cours de ces dernières années, et à tendance à faire disparaître son secteur traditionnel . Le démarrage de cet élevage intensif, qualifié d'industriel, n'a commencé qu'à partir des années soixante-dix au sein de l'O.N.A.B , qui s'est chargé à la réalisation de l'autosuffisance de la population galopante en protéines animales.

Durant la décennie (1980–1990), le nombre d'élevages avicoles en Algérie a enregistré un accroissement, à la faveur des politiques avicoles initiées par l'Etat et, particulièrement favorables au capital privé. (**Oubouyahia L. et Nassik S ,2021**).

3. Les contraintes de l'aviculture:

En effet l'aviculture à plusieurs contraintes, ces derniers peuvent être biologique (parasites, virus, bactéries, toxines...), chimique (polluants, résidus, pesticides, gaz irritants) Ou physique (température, humidité....),ou bien humaine (manque d'hygiène, manque d'aération...).

La réussite de toute spéculation animale est la résultante d'un certain nombre de facteurs dont les plus importants sont outre la technicité de l'éleveur :

3-1 Animal et son potentiel génétique :

Le but de l'amélioration génétique est de produire un animal avec un génotype lui permettant de produire le plus efficacement possible et de maximiser le profit de l'éleveur tout en considérant les contraintes de l'environnement dans lequel l'animal réalise sa production. La performance d'un animal est la résultante de son potentiel génétique (génotype) et des conditions d'élevage dans lesquelles il est entretenu (environnement). (Farah z,Saim s,Irtani g.,2022).

3-2 Aliment qui lui est distribué:

Un aliment est une substance qui doit fournir à l'animal l'énergie et les éléments nécessaires à son maintien en vie et donc couvrir les besoins d'entretien. Pour les animaux d'élevage, l'aliment devra en plus apporter assez de nutriments pour répondre aux besoins de production (œufs ou viande). (Chardon h. et Brugere h ,2014).

3-3 Logement où il est élevé:

L'effet néfaste d'un site inadapté pour différentes raisons, excès ou insuffisance des mouvements d'air, humidité, est connu depuis le début de l'aviculture industrielle, l'importance des frais vétérinaires était en relation étroite avec la qualité de l'implantation des bâtiments (Chatellet, M-C ,2007).

3-4 Soins et hygiène:

Pour diminuer le taux des maladies infectieuses qui causent généralement, la mort des poules et par conséquent des pertes au niveau financier, chaque éleveur doit mettre en place un système de biosécurité basée sur l'hygiène et la prévention. En effet, la biosécurité est axée sur deux principes. Tout d'abord, la désinfection des poulaillers, des alentours et de l'équipement pour diminuer le nombre des microbes. Ensuite, prendre des mesures de sécurité contre les pathogènes ("les mesure d'hygiènes dans les poulaillers", 2014).

Le respect des températures de consignes en fonction de l'âge des animaux, la maîtrise de l'hygrométrie et des vitesses d'air, la qualité de la litière, le préchauffage des bâtiments avant mise en place, la qualité du protocole de nettoyage-désinfection du bâtiment sont également des paramètres importants à prendre en compte avec l'alimentation et la qualité de l'eau de boisson pour une maîtrise des performances technico-économiques (**Chardon h. et Brugere h ,2014**).

Chapitre II :

Escherichia

coli

1-1 Historique

Escherichia coli est une bactérie Gram-négatif, appartenant à la famille des entérobactéries, isolée et décrite en 1885 par le pédiatre allemand, Theodor Escherich (1857-1911) dans les selles des nourrissons, en 1919, en hommage aux travaux d'Escherich, Castellani et Chalmers proposent de nommer cette bactérie *E. coli* (Grimont, 1987).

Plusieurs travaux tendent à confirmer le rôle pathogène de cet agent dans les entérites des nouveau-nés, ainsi que dans des troubles divers atteignant de nombreuses espèces animales notamment les volailles qui ont fait l'objet de plusieurs recherches (Fontaine M., 1993).

Lignieres, en 1894 décrit dans une étude expérimentale chez les volailles une affection de type systémique, en provoquant la maladie par injection à des poules en intraveineuse des cultures d'*E. coli* (Martel et al., 2000).

Martel, en 1997 démontre que l'inoculation du germe dans les muscles pectoraux des poules provoque des lésions de péricardite, des conjonctivites, des entérites, des omphalites, des granulomatoses (Peyrou, M. 2001).

1-2 Habitat

Escherichia coli est une espèce habituelle et commensale du tractus gastro-intestinal, associé à de nombreuses pathologies intestinales et extra-intestinales, tant chez l'homme que chez les animaux domestiques. Il colonise l'intestin dès la première heure après la naissance et occasionne chez les nouveau-nés et nourrissons, des diarrhées fréquentes très souvent mortelles (Dierikx et al., 2013).

Les *Escherichia coli* n'existent pas normalement dans l'eau et le sol, leur présence est le témoin d'une contamination fécale récente qui rend l'eau impropre à la consommation (Avril et al., 1992).

1-3 Structure :

Le lipopolysaccharide (LPS) est un composant major de la surface externe des bactéries à Gram négatif. Le LPS est composé de trois entités synthétisées séparément : le lipide A, LE Noyau et l'antigène O, enchâssé dans la membrane externe, représente la partie proximale du LPS, le noyau, sa partie médiane, et l'antigène O, sa partie distale « libre » dans le milieu extérieur (figure 1)

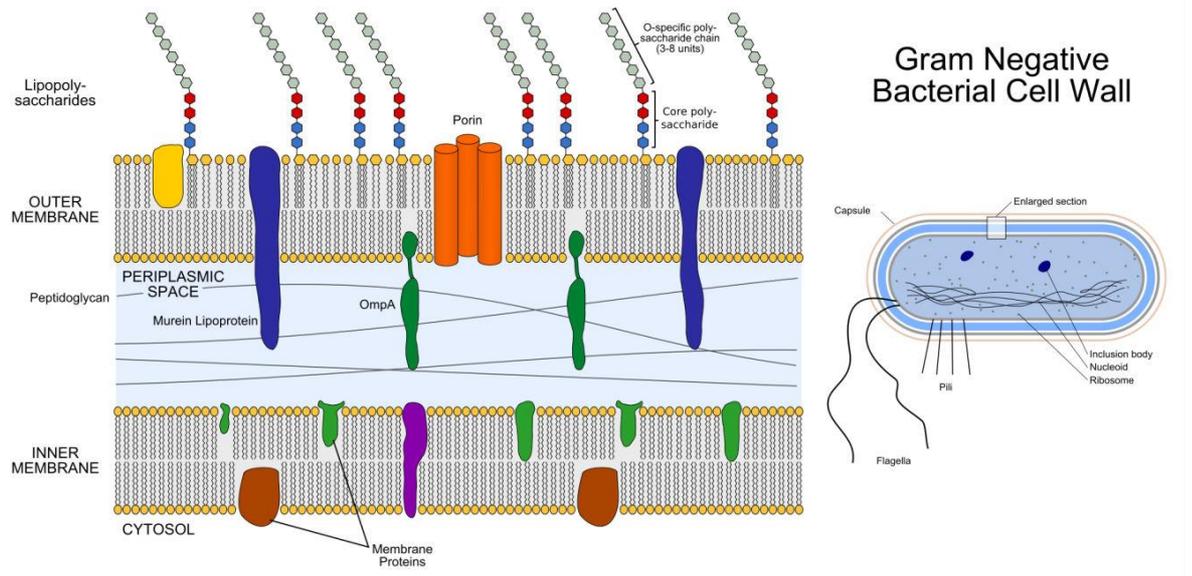


Figure 1 : structure de la membrane des bactéries à Gram négatif (SZALOTAMINIAU et MANIL J ,2006)

1-4 Taxonomie d'*Escherichia coli*

L'espèce *Escherichia coli* appartient au genre *Escherichia* de la famille des *Enterobacteriaceae* qui a son tour fait partie de l'ordre des *Enterobacteriales*, du règne des bactéries (*bacteria*) (bergey et holt, 2012).

1-5 Caractères morphologiques

Escherichia coli est un bacille gram négatif aux extrémités arrondies, uniformément coloré, non sporulé, appartenant à la famille des entérobactéries, Sa taille (2-3 x 0.6 µm) et sa forme peuvent varier et de nombreuses souches possédant des flagelles péritriches (mobiles), certaines souches sont capsulés et donnent des colonies mucoïdes sur milieu solide (Liang, C et al ., 2023).

1-6 Caractères cultureux

Aérobie facultatif, elle cultive bien en 24 heures à 37 °C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes; lisses, à bords régulier, de 2 à 3mm de diamètre (Megueni, N et al ., 2019).

Sur milieu liquide, elle occasionne un trouble uniforme du bouillon .Les cultures se font en principe sur des milieux plus sélectifs qui permettent l'identification et l'isolement des *E. Coli*. Ils contiennent des inhibiteurs vis-à-vis des bactéries à gram positif, mais aussi des indicateurs colorés de pH (rouge phénol). Ces milieux facilitent l'isolement de ces bactéries en vue de l'identification (le Minor et Viron, 1989).

Sur milieu Mac Conkey: les colonies sont lisses, translucides, brillantes et rosâtres (figure 2) (Livrelli, V., Bonnet .,et al .2007).



Figure 2 :Colonies lactose positives d'*E.coli* sur gélose Mac Conkey(Hans, 2015).

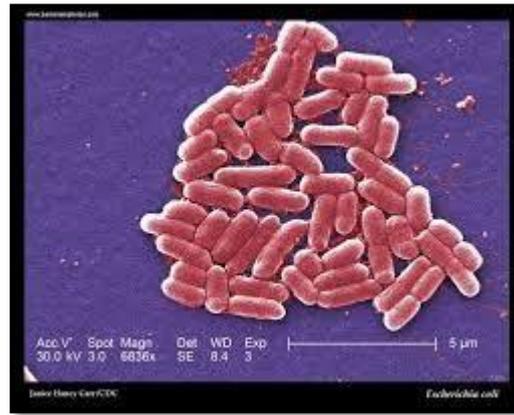


Figure3: Observation microscopique d'*Escherichia coli* (6,836×) dans le microscope électronique (Janice .H , sd).

1-7 Caractères biochimiques

C'est sur l'étude des caractères biochimiques qui repose en pratique le diagnostic de genre et d'espèce qui ne doit être abordé qu'après que le diagnostic de famille ait été établi avec certitude (Mateo, C. 2016).

Les principaux caractères sont : absence de production d'oxydase ,absence d'uréase, fermentation de lactose ,production d'indole ,absence de croissance sur le citrate et pas de production de sulfure d'hydrogène (H₂S) (Minor et Richard, 1993).

Selon Guechi (2002) environ 70 % des souches mobiles donnent les Caractères suivants :

- Gazéogenèse positive en général.
- Production d'indole positive.
- Lactose ,mannitol, sorbitol positif.
- β-galactosidase(ONPG)positive.
- Phénylalanine-désaminase, uérase, oxydase, gélatinase, malonate, anoditol, inositol, H₂S, Citrate de Simmons négatifs.
- Rouge de méthyle positif.
- Vogues Proskauer(VP)négative.

On peut rencontrer des variant négatifs pour un caractère habituellement positif par exemple l'indole ; ceci est consécutif à une mutation.

A l'inverse, on peut exceptionnellement rencontrer des variantes positives pour un caractère habituellement négatif. Ce caractère peut être codé par un plasmide dont l'existence a été démontrée dans certains cas (H₂S, citrate de Simmons) (Mateo, C. 2016).

1-8 Caractères antigéniques

E. coli possède des antigènes associés à quatre types de structures (Alain et Bernard, 2002).

Les antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O qui correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS), les antigènes de flagelles ou antigènes H de nature protéique, constitués de flagelline, les antigènes de surface de type F qui sont présents chez les souches ayant des propriétés d'adhésion, et les antigènes d'enveloppe K qui sont de nature polysaccharidiques (Alain et Bernard, 2002).

Le sérotypage représente une méthode intéressante pour caractériser des souches pathogènes d'*Escherichia coli*, et n'a d'intérêt en pratique que dans la mesure où l'on peut faire une relation entre le sérotype et le pouvoir pathogène des souches (Aberkane, C, 2023)

a-Antigène O ou antigène somatique

Sa nature est lipopolysaccharidique. Chaque antigène O permet de définir un sérotype O correspondant, grâce à des réactions d'agglutination.

Les antigènes O sont particulièrement importants, car ils conditionnent le pouvoir pathogène des souches, ainsi que l'immunité conférée, c'est pourquoi certains sérotypes semblent plus impliqués que d'autres dans le processus pathologiques. On a distingué jusqu'à présent, plus de 171 antigènes O différents chez *Escherichia coli* (Benklaouz et al., 2020).

b-Antigène K ou antigène capsulaire

Les antigènes de surface aussi appelés antigènes de capsule ou d'enveloppe ou encore antigène Vi chez *Salmonella* sont des polysides acides qui ont été initialement divisés en trois types A, B et L.

- **L'antigène L:** thermolabile, est le plus fréquent. Le chauffage à 100°C pendant une demi-heure le détruit et démasque l'antigène O le rendant accessible aux techniques de sérogroupage.
- **L'antigène A:** est plus rare et correspond véritablement à un antigène capsulaire. Le chauffage à 100°C ne suffit pas à le détruire. Seul un autoclavage à 121°C durant une heure permet de démasquer l'antigène somatique.
- **L'antigène B:** possède une thermolabilité intermédiaire entre les Ag L et A. Un chauffage à 100°C permet le sérogroupage mais ne supprime pas totalement l'antigène

B. Un chauffage plus prolongé peut permettre de le détruire totalement. L'antigène K qui entoure la paroi de certaines entérobactéries peut masquer l'antigène O (Avril *et al.*, 2002).

c-Antigène H ou antigène flagellaire

Il n'existe que chez les bactéries mobiles, donc pourvues de flagelle. A cet antigène H correspond une agglutination H faite d'agglutinats floconneux, lâches et facilement dissociés par agitation. Les bactéries sont agglutinées par leurs flagelles on en connaît 56 types.

Les antigènes O, K, H sont à la base d'un schéma de diagnostic antigénique (Kim, Y. B., *et al.*, 2019).

d-Antigène F ou antigène fimbriaire

Ils sont présents dans les structures fimbriaires de certaines adhésines de virulence. Le terme " fimbriae" est utilisé pour décrire les adhésines de surface dont la fonction est l'attachement de la bactérie à l'épithélium intestinal. Ces fimbriae sont encore appelés pili ou facteurs de colonisation. Ils forment autour du corps bactérien de fins filaments non flagellaires ayant une spécificité antigénique propre (Tang, B., Wang *et al.*, 2022).

Ils sont un important facteur de pathogénicité, car ils confèrent aux bactéries des propriétés d'adhésion aux cellules, telles les cellules intestinales ou rénales et hémagglutinantes des bactéries qui les possèdent (Joly, B., *et al.*, 2007).

1-9 Résistance aux agents physiques et chimiques

Escherichia coli est relativement sensible aux agents physiques et chimiques, dans la majorité des cas, une température de 55°C pendant une heure ou 60°C pendant 20 mn est mortelle pour ces organismes et ils sont tués en autoclave à 120°C pendant 20 mn (Mao *et al.*, 2003).

Elle peut survivre des semaines ou des mois dans l'eau, les matières fécales et dans les poussières des animaux domestiques, elle est hautement sensible à l'action létale du phénol et du crésol, mais l'efficacité de ces désinfectants est réduite en présence du mucus et des fèces (Guechi, 2002).

2. Classification des souches:

2-1 Pathovars responsables d'infections intestinales:

2-1-1 Les *Escherichiacolientéro*-pathogènes(EPEC)

Ces souches étaient responsables, dans les années 50, de diarrhées infantiles graves ou toxiques survenant par épidémies dans des crèches ou des maternités. Ces souches encore

appelées E. coli G.E.I (des gastro-entérites infantiles) sont plus rarement rencontrées aujourd'hui, elles sont alors isolées de cas sporadiques (**Andrade et al., 1989; Jerse et al., 1990**).

2-1-2 Les *Escherichiacolientéro-toxinogènes*(ETEC)

Elles sont responsables chez l'homme de diarrhées très liquides survenant dans les pays en développement. Ces diarrhées s'observent principalement chez les voyageurs d'où l'appellation de «diarrhée des voyageurs » ou «turista ». Elles sont souvent épidémiques chez les enfants de ces pays (**Levine, 1987**).

Les ETEC se distinguent des souches commensales par leur capacité de produire des facteurs de virulence: des adhésines et des toxines permettant la colonisation sélective de l'intestin grêle (**Derycke, 1991**).

La première étape de l'infection à ETEC est la colonisation et l'adhésion des bactéries aux microvillosités des entérocytes grâce à des facteurs d'attachement (adhésines) de type fimbriaire (**Avril et al., 1992 ; Mainil, 1993**).

La deuxième étape est caractérisée par la production d'une ou plusieurs entérotoxines qui vont provoquer une diarrhée (**popoff, 1996**).

▪ Les entérotoxines

Les entérotoxines désignent des toxines dont l'organe cible est l'intestin et sont responsable de la sécrétion accrue d'eau et d'électrolytes d'où diarrhée. Mais certaines agissent sur la muqueuse intestinales en produisant des nécroses (**Bywater, 1982; Popoff, 1996**).

Les souches entérotoxigènes synthétisent deux sortes de toxines:

▪ -Les entérotoxines thermolabiles (LT)

Elles sont mises en évidence par leur pouvoir de dilatation de l'anse intestinale ligaturée de lapin et de diverses espèces animales décrites par Smith *et al.*, 1970 cités par Pohl, 1993, mais pas celle du porc (**Malalba, A, (2012)**).

La toxine (LT) est une protéine qui ne résiste pas à un chauffage et est détruite à 65 °C pendant 30 minutes (**Kings bury et Wagner, 1990**).

▪ -Les entérotoxines thermostables(ST)

Ces toxines sont à l'origine de diarrhées intenses, elles se différencient des autres entérotoxines par leur petite taille et leur résistance à la chaleur, elles ne sont pas détruites

après un chauffage de 30 minutes à 100°C (Kings Bury et Wagner, 1990).

2-1-3 Les *Escherichiacolientéro-invasifs*(EIEC)

Les EIEC sont responsables de diarrhées aqueuses qui, dans de rares cas, vont évoluer vers une dysenterie suggérant que leur pouvoir pathogène est similaire à celui des *shigella* (Nataro et Kaper, 1998)

Les souches EIEC sont uniquement présentes chez l'homme et les singes supérieurs (Pohl, 1993).

Les EIEC paraissent relativement rares, mais cette rareté peut être due au fait qu'ils peuvent être aisément confondus avec les *shigella*, étant donné que leur pouvoir pathogène est comparable à celui des *shigella* tant par leurs caractères biochimiques qu'antigéniques c'est-à-dire sérologique.

Les EIEC sont capables comme les *shigella* d'envahir la muqueuse du colon par internalisation dans les entérocytes et la détruisent en provoquant des dysentéries tant chez l'adulte que chez l'enfant. La présence de leucocytes dans les selles est le processus témoignant du processus invasif.

Comme les *shigella*, les EIEC hébergent un plasmide qui présente des zones d'homologie avec ceux des *shigella* et qui sont corrélées avec la virulence de ces souches. Jusqu'à présent *Escherichia coli* invasif n'a pas été observé chez des animaux domestiques (Avril et al., 1992 ; pohl, 1993).

2-1-4 Les *Escherichiacoli* à adhérence diffuse (DAEC)

Les DAEC sont toute une nouvelle catégorie de souches associées à des diarrhées aqueuses aiguës ou persistantes survenant surtout chez les enfants (plus particulièrement ceux âgés de 2 à 6 ans) (Garcia et Le Bouguenec, 1996).

2-1-5 Les *Escherichiacoli* entérohémorragiques (EHEC)

Ces souches ont été décrites en Amérique du Nord, au Japon et en Europe, Elles sont responsables d'épidémies de diarrhées aqueuses puis hémorragiques (colite hémorragique). Elles appartiennent à quel que sérotypes particuliers (O157:H7, O103:H2, O26:H11, O111:H38). Les EHEC sont capables de produire une ou plusieurs cytotoxines appelées verotoxines capables de tuer *in vitro* les cellules Vero (cellules rénales du singe vert africain) par inhibition de la synthèse protéique. Les toxines sont appelées également Shiga-Like-

Toxin en raison de leurs similitudes avec la toxine de *Shigella dysenteriae* type 1. Deux types de verotoxines existent STX1, STX2 avec plusieurs variants de STX2, STX2 serait mille fois Plus cytotoxique sur les cellules endothéliales rénales humaines que STX1. L'homologie entre STX1 et STX2 varie de 50 à 60% avec des régions de faibles ou de très hautes homologies (karmali, 1989).

2-1-6 Les *Escherichiacolientéro-agrégatifs* (EAEC)

Les EAEC sont une catégorie de souches pathogènes associés, à des diarrhées aqueuses pouvant évoluer vers des formes persistantes (Huang *et al.*, 2006). Ils élaborent une entérotoxine thermostables et une entérotoxine thermolabile (Kaper *et al.*, 2004).

2-2 Pathovars à infection extra- intestinales

Les souches d'*Escherichiacoli* pathogènes extra-intestinales ExPEC se caractérisent par leur pouvoir de coloniser d'autres systèmes en dehors du système gastro-intestinal (russo et johnson, 2000) et elles représentent un risque sanitaire plus élevé que celui des *E. coli* pathogènes intestinales. Ce groupe comprend les *E. coli* uropathogènes (UPEC) responsables d'infections urinaires (cystites, pyélonéphrites), les *E. coli* associées à des méningites et des septicémies (neonatal meningitis *E. coli* ou NMEC) ainsi que le pathovar aviaire « *Avian Pathogenic E. coli* » (APEC).

Les UPEC sont les bactéries les plus impliquées dans les infections du tractus urinaire (ITU) (70% des cas). Les infections urinaires sont très fréquentes, environ 150 millions de cas par an dans le monde (Stamm et Norrby, 2001).

2-2-1 Les *Escherichiacoli* pathogènes aviaire (APEC)

Escherichiacoli (*E.coli*) est une espèce bactérienne présente naturellement dans la flore de l'intestin, à la surface des muqueuses des volailles, ainsi que dans leur environnement. Bien que la plupart des souches d'*E. coli* soient commensales, certaines souches sont susceptibles d'induire une pathologie, faisant généralement suite à l'action de facteurs prédisposant. Tels qu'une atteinte virale, mycoplasmique, ou des conditions environnementales défavorables (Gross, 1994).

Les APEC sont responsables de nombreuses pathologies aviaires dont, les aérosacculites, les péricardites, les péritonites, les salpingites, les ostéomyélites, les omphalites, l'infection la plus importante étant celle des voies respiratoires. Les sérotypes prédominants sont O1:K1 ; O2 :K1 ; et O78 : K80 (Janben *et al.*, 2001 ; Blanco *et al.*, 1997).

2-2-1-1 Facteurs de virulences associés aux APEC

Le pouvoir pathogène des *E. coli* aviaires implique la propriété des souches à coloniser l'appareil respiratoire, la résistance aux défenses immunitaires, l'aptitude à se multiplier dans les liquides physiologiques de l'animal dans des conditions de carence en fer et la capacité de produire des effets cytotoxiques, en relation avec ces propriétés.

Plusieurs facteurs de virulence ont été décrits chez les APEC, on distingue principalement les adhésines, les systèmes d'acquisition du fer, les capsules K1 et K80, l'hémagglutinine thermosensible, les protéines de la membrane externe. Plusieurs gènes de ces facteurs de virulence sont portés par des larges plasmides qui sont communs chez les APEC (Mellata *et al.*, 2010).

a-Les adhésines fimbriales

Les fimbriae sont de fins filaments protéiques extracellulaires, disposés de façon péritriche autour de la bactérie.

-Les fimbriae de type 1 ou F1

Les Fimbriae F1 sont des hétéropolymères de protéines, constitués d'une protéine majoritaire (Fim A) et de protéines minoritaires (FimF, FimG et FimH). La protéine FimH généralement située à l'extrémité des Fimbriae, constitue l'adhésine, responsable des propriétés hémagglutinines des fimbriae et impliquée dans l'adhésion aux cellules eucaryotes ce qui est en rapport avec sa grande affinité pour les mannosides. Les fimbriae de type 1 sont codés par le locus chromosomique *fim* (Orndorff, 1994).

Ces fimbriae permettent aux APEC d'adhérer aux cellules épithéliales de la trachée et du pharynx des poulets *in vivo*. Les fimbriae de type 1 sont souvent exprimés par des bactéries isolées de la trachée, des poumons, et des sacs aériens des poulets infectés mais pas par celles isolées des organes internes ou du sang (Dozois *et al.*, 1994; Pourbakhsh *et al.*, 1997).

Le rôle des fimbriae de type 1 dans la pathogénie des APEC est encore controversé. Selon certaines études, les fimbriae de type 1 permettraient aux bactéries d'adhérer à la trachée du poulet et ainsi contribuer à la virulence des APEC (Dho et Lafont, 1984; Pourbakhsh *et al.*, 1997).

D'autres travaux ont par contre démontré que ni le fimbriae F1, ni l'adhésine fimH ne sont requis à la colonisation du tractus respiratoire des poulets (**Arne et al., 2000; Marc et al., 1998**). Selon Leclerc *et al.* (2003) le fimbriae de type 1 permettrait aux *E. coli* responsables des cellulites aviaires d'adhérer à la peau des poulets.

- Les Fimbriae de type P

Les fimbriae P sont le plus souvent associés aux souches d'*E. coli* responsables des infections urinaire (UTI) chez l'homme (**Johnson, 1991**).

Ils jouent un rôle important dans l'adhérence aux cellules uro-épithéliales et dans le développement des pyélonéphrites. Les fimbriae de type P sont codés par un ensemble composé de 11 gènes situé sur le chromosome. Le fimbriae est constitué d'une sous-unité majeure (PapA) et d'une adhésine terminale (PapG). L'adhésine possède 3 variants différents (I, II et III) reconnaissant différents iso-récepteurs d'un glycolipide. La présence des fimbriae de type P est significativement plus fréquente chez les souches isolées de poulets septicémiques que chez des souches isolées de poulets sains (**Mescle, J.F , 1998**).

Les fimbriae P n'adhèrent pas in vitro aux cellules épithéliales du pharynx et de la trachée de poulets (**Miranda, J.M , 2008**) et ne sont pas exprimés in vivo à ces localisations, Cependant l'expression des fimbriae P a été mise en évidence in vivo, au niveau des sacs aériens et des organes internes (**Miranda, J.M , 2008**). ces résultats suggèrent que, si les fimbriae P ne jouent aucun rôle dans la colonisation initiale de l'appareil respiratoire. Ils pourraient intervenir dans les stades plus tardifs de l'infection.

b-Résistance au sérum

La résistance à l'effet bactéricide du complément dans le sérum, médiée par différentes structures bactériennes comme la capsule, le lipopolysaccharide, des protéines de membrane externe, est associée aux souches APEC, sur tout celles isolées de lésions de septicémie. Ainsi, il a été démontré qu'une corrélation existe entre la résistance au sérum et la virulence des souches inoculées par voie intraveineuse chez des dindes de trois semaines (**Fauchère, J.L et Avril J.L, 2002**).

D'autre part, il a été démontré qu'une forte corrélation existe entre la résistance au sérum et le taux de létalité chez des poussins d'un jour (**Lahellec, C , 1988**).

c-Les capsules

Plus de 80 capsules polysaccharidiques (antigène K) chimiquement distinctes ont été décrites chez les *E. coli*, cependant très peu d'entre elles sont associées aux infections invasives (**Oulymata, G. 2007**). Les capsules confèrent à la bactérie de la résistance à l'immunité spécifique et non spécifique de l'hôte. En absence d'anticorps spécifiques, la capsule joue un rôle de protection de la bactérie contre l'effet bactéricide du sérum et contre la phagocytose (**Mohammedi, D. (2008)**). La capsule K1 est fréquemment associée aux APEC des sérogroupes O1, O2 et non typables (**Gross et al., 1991; Dho Moulin and Fairbrother, 1999**). La capsule K80 est associée au séro groupe O78 (**Dho-Moulin et Fairbrother, 1999**). En effet, Pourbakhsh *et al.* (1997) ont démontré que 3 souches APEC exprimant la capsule K1 étaient plus résistantes aux effets bactéricides du sérum comparativement aux autres souches APEC qui expriment d'autres antigènes K. Ces résultats ont été confirmés par ceux de Mellata *et al.* (2003), qui ont démontré que la capsule K1 augmente la résistance au sérum des souches APEC, de même que la capacité de colonisation des organes internes chez les volailles. Ainsi, la capsule K1 est associée aux souches septicémiques humaines et animales (**Nana, G.S, 2000**).

d-Aérobactine

La faible quantité de fer disponible dans les liquides physiologiques ne permet pas aux bactéries de pouvoir s'y multiplier. C'est pourquoi, elles ont acquis un système très efficace de captation du fer leur permettant de survivre en présence de faibles concentrations en fer. Plusieurs études ont montré que la plupart des souches APEC (73-98%) possède le système d'acquisition du fer appelé aérobactine, alors que les souches non pathogènes le produisent moins fréquemment (**Dho et Lafont, 1984 ; Lafont et al., 1987; Emery et al., 1992**).

Ce système, dont l'opéron est situé sur un grand plasmide (80Kb), fonctionne *in vivo* et son rôle principal serait de permettre aux bactéries de pouvoir se multiplier dans les différents organes autres que l'intestin (**Farah z, 2022**).

D'autre part, la corrélation élevée 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 par réaction immunologique de la protéine IutA, qui est le récepteur membranaire pour le complexe aérobactine-fer (**Dho-Moulin et Fairbrother, 1999**).

e-Toxines

Quelques études ont démontré que les souches APEC sont capables de produire des toxines pouvant être impliquées dans le processus pathogénique. Cependant, hormis la toxine VT2y (semblable à la toxine VT2v associée à la maladie de l'œdème du porcelet) présente chez 72% des souches associées à la "Swollenhead disease" (La Ragione R. M , 2002) et l' "Escherichia coli vacuolating factor" ou ECVF, toxine ressemblant à la toxine VacA d'*Helicobacter pylori*, décrit chez une trentaine de souches aviaires pathogènes (Ledoux A. L., 2003) et l' "Escherichia coli vacuolating factor" ou ECVF, toxine ressemblant à la toxine VacA d'*Helicobacter pylori*, décrit chez une trentaine de souches aviaires pathogènes (Ledoux A. L., 2003).

f-Hémagglutinine

Récemment, il a été montré que le gène *tsh* isolé d'une souche APEC de poulet et localisé sur un plasmide codant pour une hémagglutinine sensible à la température, est associé préférentiellement à ces souches et ne se retrouve pas chez des souches d'*E. coli* isolées de fèces d'animaux sains (Laaram M et al , 2017).

La prévalence du gène *tsh* a été d'ailleurs investiguée sur une collection de 300 souches APEC testées sur le modèle du poussin d'un jour. Les résultats indiquent que parmi les souches possédant le gène *tsh*, 90,6 % font partie des souches les plus virulentes (Halfaoui z,2015).

De plus, des études menées avec un mutant *tsh* montrent que Tsh peut contribuer au développement des lésions dans les sacs aériens, mais n'est pas nécessaire à la bactérie pour coloniser l'ensemble de l'animal et créer des lésions de péricardite, périhépatite et induire de la septicémie (Halfaoui z,2015).

2-2-1-2 Sérotypes

Les premières études menées sur les colibacilles aviaires par Sojka et Carnaghan (1961) montrent que les sérogroupes les plus fréquents sont O1, O2, O35 et O78. Plus récemment, des études menées sur 112 souches d'*E. coli* isolées de cas de colibacillose au Canada par Dozois *et al.* (1992), ont montré que 16 sérogroupes étaient représentés parmi lesquels les sérogroupes O78 (52 %) et O1 (6 %) étaient les plus fréquemment rencontrés. Les dernières études réalisées montrent que les plus présents et les plus pathogènes sont les sérotypes O1, O2 et O78, représentant de 15 à 61 % des souches isolées bien que d'autres soient aussi présents. Les autres sérotypes représentés de manière significative sont : O8, O15, O18, O35, O88, O109, O115 et O116 (Brée *et al.*, 1989 ; Dho -Moulin *et al.*, 1990 ; Babai *et al.*,1997 ; Blanco *et al.*,1997 ; Dho-Moulin et Fair brother, 1999).

2-2-1-3 Distribution environnementale

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. Chez le poulet, les concentrations sont de l'ordre de 10^6 colibacilles par gramme de matière fécale. Les plus grandes concentrations étant retrouvées chez les animaux de moins de 3 semaines, essentiellement au niveau du tractus digestif postérieur (**Gross, 1994 ; Dho- Moulin et Fairbrother, 1999**).

Les *Escherichia coli* sont très facilement véhiculés par la poussière qui constitue une source importante de contamination en élevage (Oyetunde, 1978). Ainsi il a été démontré que la poussière présente dans les élevages pouvaient contenir jusqu'à 10^6 colibacilles par gramme et que les sérotypes s'y retrouvant s'avéraient être identiques à ceux retrouvés dans les lésions Septicémiques (Gross, 1994). On peut aussi retrouver ces bactéries dans l'alimentation et l'eau de boisson.

Chapitre III :
Les antibiotiques
Et
L'antibioresistance

. LES ANTIBIOTIQUES :

1. Définition

En 1942, WAKSMAN donna le nom d'antibiotique à toutes les substances, possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte. Cependant, le mot même « antibiotique » (du grec *anti* signifiant « contre » et *bios* « la vie ») fut créé en 1889 par Paul VUILLEMIN, qui proposa également le terme « antibioté » pour les microorganismes qui provoquent l'antibiose (**Bryskier A , 1999**).

Les antibiotiques sont donc des médicaments qui permettent de lutter efficacement contre des infections bactériennes, agissant de manière spécifique, en bloquant une des étapes essentielles à leur survie ou à leur multiplication (**Chardon et Brugere, 2014**).

2. Historique

Alors même que la notion d'agent infectieux était inconnue, certains peuples tels que les Chinois ou les Egyptiens utilisaient déjà des préparations à base de moisissures du genre *Penicillium* pour traiter certaines infections de la peau.

Ce n'est qu'au cours du 18ème siècle que l'invention du microscope permet de mettre en évidence le développement des bactéries et, de ce fait, de mettre en doute la théorie de la maladie comme phénomène spontané (**Chatellet, 2007**).

La première pierre à l'édifice de la lutte antimicrobienne est apportée en 1877 par Pasteur et Joubert qui montrèrent que l'injection, à un animal, de bactéries responsables de la maladie du charbon, *Bacillus anthracis*, en même temps que des bactéries communes, ces dernières empêchaient les premières de se développer. Cette découverte fait naître la notion d'antibiose par opposition à celle de symbiose. C'est en 1928 que Fleming permet d'élucider cette notion en contaminant involontairement des cultures de staphylocoques par des souches de *Penicillium notatum* (**Philippon, 2010**).

La difficulté à isoler et purifier la substance chimique – ici, la pénicilline – complique l'avancée des recherches de Fleming. Ce n'est que 10 ans plus tard que ses travaux sont récupérés par Florey et Chain permettant ainsi l'isolement d'un sel sodique de pénicilline. La réalisation de tests sur diverses espèces animales afin de vérifier l'innocuité du traitement, permet l'investissement d'un industriel Américain, Pfizer, et la production à grande échelle de la pénicilline dès 1943 (**Philippon, 2010 ; Chatellet, 2007**).

Parallèlement, de nombreuses autres recherches sont réalisées pour trouver d'autres substances antimicrobiennes provenant de champignons ou de micro-organismes.

Au bilan, les antibiotiques peuvent aujourd'hui être d'origine naturelle, semi-synthétique ou produits totalement par génie chimique. Les antibiotiques actuellement utilisés en médecine vétérinaire sont généralement issus de bactéries actinomycétales du genre *Streptomyces*, de bacilles ou de champignons (**Chatellet, 2007**).

3. Classification :

Les antibiotiques ; en fonction de leur structure chimique, sont regroupés en plusieurs grandes familles dans chaque famille on retrouve :

- une structure chimique voisine, plus ou moins homogène.
- des caractères physiques et chimiques voisins, déterminant un devenir dans l'organisme en général assez proche
- une activité antibactérienne du même ordre (**Fontaine ,1993**)

- **Les beta-lactamines**

Sont caractérisés par un cycle dit betalactamine ,on distingue deux groupes :

- a) **les pénicillines**, extrait de souche de pénicilium (pénicilline G) et leurs dérivés de semi synthèse
- b) **les céphalosporines**, extrait de souches de céphalosporium .

- **Les aminosides**

Dont le plus connu est streptomycine ,extraits de diverses souches de streptomycetes (moisissure)

- **Le chloramphenicol**

Antibiotique de structure chimique simple, initialement extrait d'une souche de streptomycetes ; obtenu aujourd'hui par synthèse totale

- **Les tétracyclines**

A structure tétracyclique (quatre cycle) ; extrait de divers souches de streptomycetes ,

- **Les antibiotiques polypeptidiques**

Constitués de chaînes d'acides aminés (d'où leur nom de polypeptides) extrait de

bactéries du genre bacillus .

- **Les macrolides et antibiotiques apparentés**

Contenant dans leur structure un volumineux cycle lactone (ou –olide-) extrait de divers souches ex : érythromycine ; tylosine

Antibiotiques antifongiques

Actif contre les champignons parasites (mycose)

Divers

Antibiotiques de structure et de provenance très diverse ;utilisés notamment en antibio supplementation (flavophospholidol ;avoparcine)

4. L'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire

Comme tout être vivant, les animaux sont sujets à des maladies, qu'il est nécessaire de prévenir ou de traiter. En 2001, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé qu'au moins 50% des antibiotiques produits dans le monde étaient destinés aux animaux d'élevage et de compagnie. Les antibiotiques peuvent être utilisés de trois manières différentes avec des objectifs variables : curatif, préventif et comme promoteur de croissance (**Chardon et Brugere, 2014**).

Depuis les années cinquante, les antibiotiques sont utilisés en élevage comme médicaments vétérinaires, à des fins soit thérapeutique soit zootechnique (**Martel et Chalus-Dancla, 2000**). Les antibiotiques ont tout d'abord une utilisation thérapeutique, visant l'éradication d'une infection présente (curative) ou la prévention d'une infection contagieuse déclarée (métaphylactique) (**Martel et Chalus-Dancla , 2000 ; Chardon et Brugere, 2014**). L'incorporation de faibles doses d'antibiotique dans les aliments stimule la croissance des animaux, afin d'augmenter de façon importante la rentabilité des élevages, c'est la zootechnique (**Martel et Chalus-Dancla, 2000**).

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des antibiotiques utilisés en aviculture (**Bensemmane, et al 1992**)

Familles d'antibiotiques	Molécules
Betalactamines	Aminopénicillines : Ampicilline et Amoxicilline
Aminosides	Dihydrostreptomycine, Néomycine, Spectinomycine
Quinolones	Enrofloxacin, fluméquine, acide oxolinique
Tétracyclines	Oxy et chlortétracycline, doxycycline
Polypeptides	Colistine (polymyxine E)
Macrolides et apparentés	Érythromycine, Josamycine, Lincomycine, Spiramycine, Tylosine, Tilmicosine
Sulfamides	Sulfadiazine, Sulfadimidine, Sulfadiméthoxine, Sulfaquinoxaline
Diaminopyrimidine	Triméthoprime, pyréméthoxine

- **L'antibiorésistance :**

- 1. Définition**

Il existe plusieurs définitions de l'antibiorésistance en fonction du domaine dans lequel on l'étudie (**Guillemot et al, 2006**)

- Pour le **clinicien**, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si le traitement n'est pas efficace ;
- Pour le **pharmacologue**, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si les concentrations atteintes au site d'action, sont inférieures à la concentration minimale inhibitrice ;
- Pour le **microbiologiste**, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la concentration minimale inhibitrice ;

- Pour l'**épidémiologiste**, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle a une concentration minimale inhibitrice significativement différente de celle de la population habituelle.

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise :

✓ **La résistance naturelle**

La résistance est dite naturelle, si toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique ; ceci sous-entend que ces souches bactériennes ont manifesté d'emblée un phénomène de résistance, avant toute pression sélective, en exprimant une propriété innée (le phénotype sauvage). Par exemple : les mycoplasmes qui n'ont pas de paroi, ce qui les rend insensibles aux bêta-lactamines, ce type de résistance est rencontré chez les souches n'ayant jamais été en contact avec un antibiotique (**Bryskier, 1999 ; Carle, 2009 ; Chardon et Brugere, 2014**).

✓ **La résistance acquise**

La résistance acquise survient lorsqu'un individu d'une population de bactéries normalement sensibles devient résistant. C'est le résultat d'une modification génétique : mutation de gène endogène ou acquisition d'un gène exogène. Ce type de résistance se manifeste sous l'effet d'une pression de sélection, permettant ainsi aux bactéries ayant acquis cette résistance de se multiplier en présence de l'antibiotique (**Bryskier, 1999 ; Carle, 2009 ; Chardon et Brugere, 2014**).

2. Transfert horizontal de gènes (HGT)

Le transfert horizontal de gènes joue un rôle clé dans l'évolution des bactéries et la propagation des gènes de résistance aux antimicrobiens. Les supports de gènes de résistance aux antibiotiques sont multiples tels que les plasmides, les transposons ou les intégrons, qui sont des éléments génétiques mobiles pouvant donc être transférés à différentes souches ou espèces bactériennes (**Cunha m. p. v. et al , 2014**).

2.1 La Transformation

La transformation est un processus actif qui permet le transfert et l'échange de gènes, ce phénomène naturel est contrôlé par des gènes chromosomiques qui permettent l'absorption de l'ADN exogène libre par une cellule compétente, C'est un mécanisme d'échange de gènes très répandu, mais pas universel entre les souches bactériennes (**Dziva et al, 2008**).

Beaucoup de bactéries transformables libèrent leur ADN pendant la croissance. Ainsi, au moins 50 bactéries différentes ont été démontrées comme étant compétentes pour acquérir des gènes libérés dans l'environnement par d'autres organismes, même d'origine eucaryote (plantes, levures et animaux) (Havarstein et al, 1998). Les gènes acquis après transformation doivent être intégrés dans un plasmide ou un chromosome pour être fonctionnel (**Levy , 1998**).

2.2 La conjugaison bactérienne

La conjugaison est un moyen fréquent de transférer des plasmides. Un ADN simple brin est produit lors de la conjugaison entre deux cellules bactériennes, puis transféré d'une cellule donatrice à une cellule réceptrice. Ensuite, un plasmide circulaire est créé en répliquant un seul brin. (**Oubouyahia L et al., 2021**).

Si les cellules contiennent un plasmide spécifique appelé facteur F (F pour fertilité), la conjugaison des bactéries est possible. Les cellules F⁺ ou donatrices ont à leur surface de longs filaments tubulaires appelés pili. Un ou plusieurs pili peuvent être liés à la surface de cellules qui ne contiennent pas le facteur F. Ces récepteurs sont appelés cellules F⁻, ou cellules réceptrices. Les deux cellules sont alors reliées par un tunnel formé par le pilus. Un des brins du facteur F passe dans la cellule F lors de la conjugaison, où son brin complémentaire sera synthétisé. En contenant le facteur F normal bicaténaire, la cellule F⁻ devient une cellule F⁺.

2.3 La Transduction

La transduction est un mécanisme de transfert de l'ADN d'une bactérie à d'une autre, dont le vecteur est un virus bactérien appelé *bactériophage*. Ce mécanisme se produit généralement lorsqu'un virus porte accidentellement de l'ADN d'une cellule bactérienne et l'injecte dans une autre essentiellement à la même espèce. Deux types de transduction sont rencontrés : la transduction généralisée et la transduction spécialisée (Boulbair, 2017).

2.3.1 Transduction généralisée

Elle résulte d'une erreur rare lors de l'assemblage d'un phage, lorsqu'un segment de génome de l'hôte est emporté avec l'ADN du phage. Cet ADN sera injecté à l'intérieur de la bactérie réceptrice et pourra apporter des gènes de résistances aux antibiotiques transmis verticalement à la descendance. S'il n'est pas intégré au chromosome de la réceptrice il sera perdu par dilution au cours des divisions bactériennes.

2.3.2 Transduction spécialisée

C'est une caractéristique de certains phages lysogènes qui sont restés intègres dans le chromosome de l'hôte un certain temps. A l'activation, l'excision du génome viral emporte des gènes adjacents de leur site d'intégration, l'infection d'une autre bactérie par ces virions apportera à celle-ci des nouveaux gènes qui pourront être des gènes de résistances aux antibiotiques.

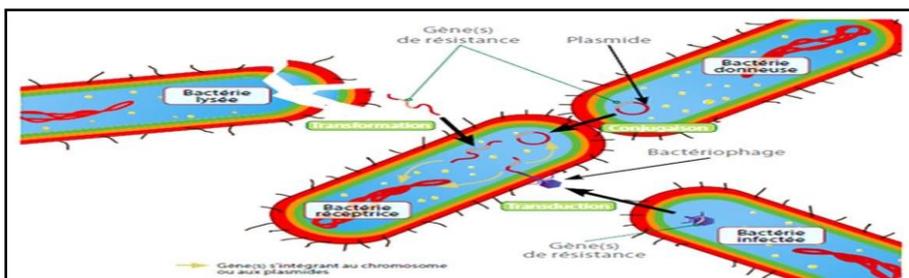


Figure 4: Les différents mécanismes de transfert horizontal des gènes de résistance (Chardon et Brugere, 2014).

3. Mécanismes de résistance

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (**Guardabassi et Courvalin, 2006**). La figure 2 présente une illustration de ces différents mécanismes de résistance au sein des bactéries Gram négatives.

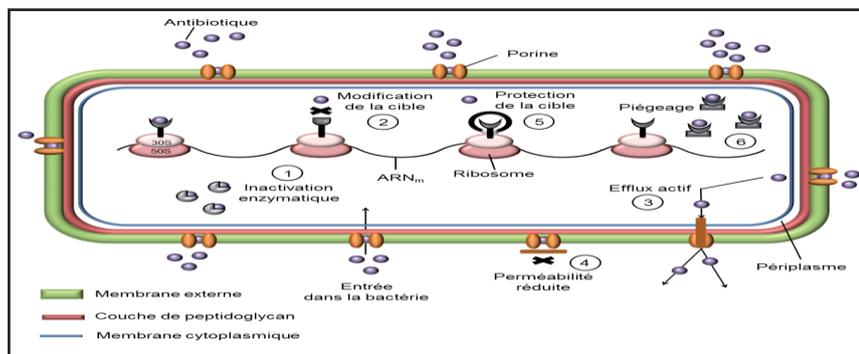


Figure 5 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative, adapté de **Guardabassi et Courvalin 2006**)

1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique.

ARNm : acide ribonucléique messager

3.1 Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte

d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009**).

3.2 Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines (triméthoprime) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêtalactames d'usage vétérinaire sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méthicilline (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009**).

3.3 Pompes à efflux

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la

réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux sur base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour specificdrug-resistance), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour multiple-drug-resistance). Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, représentent un important mécanisme de résistance aux tétracyclines essentiellement parmi

les bactéries Gram négatives, aux composés du groupe MLS et aux phénicolés. Les pompes MDR (dont notamment MexAB-OprM chez *P. aeruginosa*, AcrAB-TolC chez *Escherichia coli*, QacA chez *S. aureus*, VceAB chez *Vibrio cholerae*, MdrL chez *Listeria monocytogenes* et MreA chez *Streptococcus agalactiae*) (Poole, 2001; Kumar et Schweizer, 2005), généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques, sont classées en deux groupes sur base de la source d'énergie utilisée : les transporteurs ABC (pour ATP-binding cassette) utilisant l'hydrolyse de l'ATP et plutôt spécifiques de certains composés comme le groupe MLS, et les transporteurs secondaires exploitant le gradient électrochimique transmembranaire de protons et d'ions sodium pour expulser la molécule à l'extérieur de la cellule et responsables de résistances multiples aux antibiotiques (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

3.4 Perméabilité réduite

Contrairement aux bactéries Gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycanes que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries Gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable, au sein des bactéries Gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. La membrane externe de certaines bactéries telles que *P. aeruginosa* est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de

sensibilité aux antimicrobiens. En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Citons comme exemple, la réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactames, aux tétracyclines et au chloramphénicol. La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries Gram négatives et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les Enterobacteriaceae, étant donné le large spectre d'antibiotiques qu'elle cible. En outre, on décrit également ce type de phénomène pour expliquer la résistance aux aminoglycosides parmi les germes anaérobies ainsi que le faible niveau de sensibilité clinique (résistance intrinsèque à bas niveau) observé vis-à-vis de cette famille de composés parmi les bactéries anaérobies facultatives telles que les entérocoques et les streptocoques. En effet, cette famille d'antibiotiques pénètre à l'intérieur des cellules bactériennes via un mécanisme de transport dépendant d'un métabolisme aérobie (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009**).

3.5 Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome. Depuis quelques années, des souches présentant des résistances sub-cliniques dites à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées. Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques *qnr* (pour quinolone résistance) dont 5 groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries Gram négatives à travers le monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries Gram positives (**Rodriguez-Martinez et al, 2008**).

Les protéines qnr en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (**Robiczek et al, 2006 ; Cavaco et al., 2009 ; Wang et al., 2009**).

3.6 Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprimine ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (**Guardabassi et Courvalin ,2006**)

Chapitre IV :
Etude
Expérimentale

1- Matériels et méthodes:**• Objectif de l'étude**

Notre objectif vise à isoler et identifier les souches d'Escherichia coli et de déterminer leur fréquence de résistance vis-à-vis des molécules d'antibiotiques.

• Région et période d'étude

L'étude a été réalisée au niveau de la wilaya de Biskra, durant une période de deux mois, en mars et avril 2024. Les échantillons ont été collectés à partir des élevages de poulets de chair, puis analysés au laboratoire de microbiologie du département d'agronomie de l'université de Biskra, ainsi qu'au laboratoire d'analyse privé (El Hayat).



Figure6 : Carte géographique de la wilaya de Biskra.

1.1 Matériels:

Matériel de prélèvement :

- **Matériel de laboratoire :** Gants stérile, boîtes stériles, glacière, ciseaux , scalpel , couteau .
- **Produits chimiques :** milieux de culture (gélose nutritif, gélose Macconkey, gélose Hektoen , Violet de gentiane, Fuschine, lugol, Réactif de kovax ,TDA .Huile de paraffine , (**annexe1**)
- **Consommables :** boites de Pétri, éprouvettes , lame , lamelle , pipete ,
- **Autres :** Bec benzène, balance, agitateur, Arlène , bain marie , Balance , Becs bunsen , Etuves , Microscopes , réfrigérateur .

1.2 Méthode

1.2.1 Prélèvement :

- **Autopsie :**

L'autopsie a été réalisée selon la procédure classique d'autopsie des volailles. Elle a consisté en l'examen externe des cadavres, incision cutanée médiane, dépouillement, ouverture des cavités (abdominale et thoracique), puis l'éviscération.



Figure7 : autopsié réalisé sur un poulet de chaire. (photo personnelle).

Confection des prélèvements

La qualité des résultats bactériologiques dépend étroitement de la qualité du prélèvement. Afin d'éviter toute contamination fécale des prélèvements, On a effectué des prélèvements du foie avec des gants stériles, dans des boîtes stériles. Qui sont ensuite transportés immédiatement au laboratoire de microbiologie du département d'agronomie, dans une glacière maintenue à une température comprise entre 4°C et 6°C.

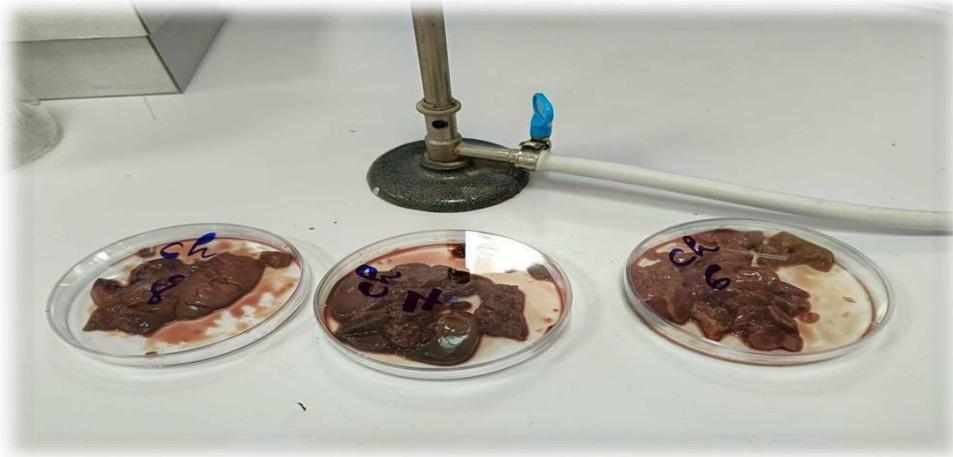


Figure 8 : image des boîtes de prélèvement (photo personnelle)

□ **Au laboratoire :**

Au laboratoire de microbiologie de département d'agronomie :

Découpe des organes (foies de poulets de chairs)

La surface des organes est flambée puis, ils sont découpés en petits morceaux à l'aide d'une paire de ciseaux et une pince stériles.

1.2.2 Isolement :

Pour l'isolement des souches, on compte sur la méthode d'écouvillonnage cette méthode de l'isolement est inspirée par **Ghafir et Daube , (2007)** dont les écouvillons sont le plus souvent utilisés selon la technique du « wet and dry » : la surface est frottée, d'abord après humidification de l'écouvillon à l'aide d'une solution eau peptonée. La surface de l'organe est flambée avant d'introduire une pipette pasteur à l'intérieur. On ensemence par des stries bien serrées sur une gélose Mac conkey et Hektoen. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h.

1.2.3 Purification:

Après incubation, on examine l'aspect des colonies ayant poussé sur les milieux de culture (Macconkey, Hektoen) .on procède à la purification de la souche en réalisant des repiquages successifs sur le milieu *Hektoen* suivi par une incubation pendant 18à 24h à 37°C puis sur gélose nutritive.

1.2.4 Identification**1.2.4.1 Macroscopique :**

Recherche des colonies typiques d'*Escherichia coli* sur des boites d'Hektoen et Macconkey. **(photo personnelle)**



Figure 9 :l'aspect macroscopique des colonies E.coli sur milieu Macconkey (photo personnelle)

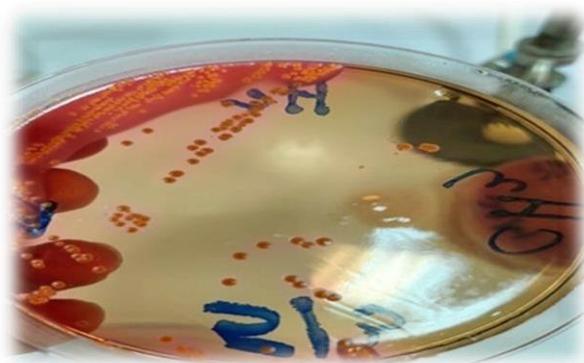


Figure 10: l'aspect macroscopique des colonies E.coli sur milieu Hektoen (photo personnelle)



Figure 11 : l'aspect macroscopique des colonies E.coli sur milieu nutritif (photo personnelle)-

1.2.4.2 Microscopique :

Coloration de Gram

L'identification des souches a été réalisée dans un premier temps par l'observation microscopique (coloration de *Gram*).

Principe :

La coloration de gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie médicale; elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuchsine (Gram -). L'intérêt de cette coloration est de donner une information rapide et médicalement importante.

La coloration de Gram est fondée sur l'action successive d'un colorant violet de gentiane, puis d'une décoloration avec l'alcool. Dans un premier temps, le colorant pénètre dans la paroi et le cytoplasme. Dans un second temps, lugol réagit avec le colorant et le rend insoluble. La perméabilité plus grande des bactéries à Gram négatif à l'alcool permet la décoloration. Les bactéries à Gram positif restent colorées en violet ou mauve.

Une contre-coloration avec la fuchsine (par exemple en rose) permet de visualiser à nouveau, les corps cellulaires des bactéries à Gram négatif. Suivi par une observation sous microscope x100 à immersion.



Figure 12 : Coloration de Gram(photo personnelle)

1.2.4.3 Biochimique :**Test de catalase :**

Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

Galerie biochimique API10s :

Il y a 10 micros tubes qui contiennent des substrats déshydratés. Une suspension bactérienne qui reconstitue les substrats est introduite dans les micros tubes. Des virages colorés spontanés peuvent se produire pendant la période d'incubation ou peuvent être révélés par l'addition de réactifs. Le tableau de lecture est utilisé pour lire ces réactions et le catalogue analytique est utilisé pour les identifier.

- **.Préparation de la galerie :**

Répartir environ 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. La languette latérale de la boîte doit contenir le numéro du prélèvement. La galerie doit être placée dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum :**

Préférentiellement, on utilise des cultures jeunes (18 à 24 heures), faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85 % Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 Mc farland.

- **Inoculation de la galerie :**

Utilisez la pipette pour remplir les tubes et les cupules de test CIT avec la suspension bactérienne. Remplissez uniquement les tubes des autres tests, pas les cupules, Créer une anaérobiose dans les tests, LDC, ODC, H₂S et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine. Refermer la boîte d'incubation et incuber pendant 24 heures à 37°C.



Figure 13 : préparation de la galerie et antibiogramme. (Photo personnelle)

1.2.5 Antibiogramme :**• Principe :**

L'antibiogramme repose sur la mise en contact in vitro de la bactérie à tester avec l'antibiotique et l'observation des conséquences de ce dernier sur la croissance et la survie bactérienne. Ce test a été réalisé selon la méthode de diffusion sur gélose recommandée par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA- SFM).

• Technique :

La gélose Mueller Hinton stérile doit être versée dans des boîtes à pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm et séchée, avant l'utilisation.

• Préparation de l'inoculum :

L'inoculum a été préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 h sur un milieu gélosé non sélectif. 3 à 5 colonies bien distinctes sont suspendues dans l'eau physiologique. La suspension bactérienne est donc contient environ $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ UFC/ml. Dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum, l'ensemencement doit se faire.

• Ensemencement :

Dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum, l'ensemencement doit se faire. Il est accompli par écouvillonnage. Plonger l'écouvillon dans la suspension et tourner l'écouvillon sur les parois du tube pour éliminer l'excès de liquide.

Pour assurer une distribution uniforme, frotter trois fois la surface entière de la boîte d'agar.

• Application des disques d'antibiotiques et incubation :

Les disques d'antibiotiques sont placés à la surface de la gélose à une distance de 3 cm les uns des autres à l'aide d'une pince stérile, puis incubation à 37°C pendant 27 h.



Figure 14 : Application des disques d'antibiotiques et incubation (photo personnelle)

1.2.6 Lecture :

Les souches bactériennes sont ensuite classées en fonction de leurs zones d'inhibition en 3 catégories : Sensibles (S), Résistantes (R) et Intermédiaires (I) (l'interprétation est faite selon les critères du (EUCAST2020). Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse puis comparés aux diamètres critiques figurant dans les recommandations de l'EUCAST2020. (Annexe 3)



Figure 15 : un pied à coulisse (photo personnelle)



Figure 16 : mesuré les diamètres des zones d'inhibition (photo personnelle) □

Choix des antibiotiques :

Les disques d'antibiotiques choisis dans notre étude sont couramment utilisés dans l'élevage d'animaux.

Tableau 2 : Les d'antibiotiques choisis dans notre étude.

Antibiotique	Charge	Famille
Amoxiciline + Acide clavulanique (AMC)	30 mcg/disc	β -lactamines
Ampiciline (AM)	10 mcg/disc	β -lactamines
Gentamicine (GN)	10 mcg/disc	Aminosides
Imipinème (IMP)	10 mcg/disc	β -lactamines
Cefotaxime (CTX)	30 mcg/disc	β -lactamines
Cotrimoxazole (SXT)	25 mcg/disc	Sulfamides
Amikacine (AK)	30 mcg/disc	aminosides
Nitrofurane (F)	300 mcg/disc	nitrofuranes

• Au laboratoire El HAYET :

Une identification biochimique et de la résistance aux antibiotiques avec un automate VITEK.

Principe de travail de VITEK :

Le VITEK est un système automatisé de diagnostic microbiologique qui utilise des cartouches avec des réactifs pour identifier les bactéries et déterminer leur sensibilité aux antibiotiques, basé sur l'analyse des réponses biochimiques.

**Figure17 :** Automate d'identification microbiologique VITEK.

2. Résultats et Discussions :

2.1 Résultats :

A partir 10 des prélèvements réalisés ,6 ont présenté une culture positive envers Escherichia coli les autres isolats concernaient d'autres germes.

Le travail du laboratoire nous a permis d'isoler 6 souches d'Escherichia coli qui sont ensuite identifier biochimiquement avec galerie Api 10S et Automate VITEK.

Tableau 3 : Les résultats positif et les résultats négatifs.

Prélèvements	Souches
Pré 01	ABS
Pré 02	E-coli
Pré 03	E-coli
Pré 04	Serratiafonticola
Pré 05	E-coli
Pré 06	ABS
Pré 07	ABS
Pré 08	E-coli
Pré 09	E-coli
Pré 10	E-coli

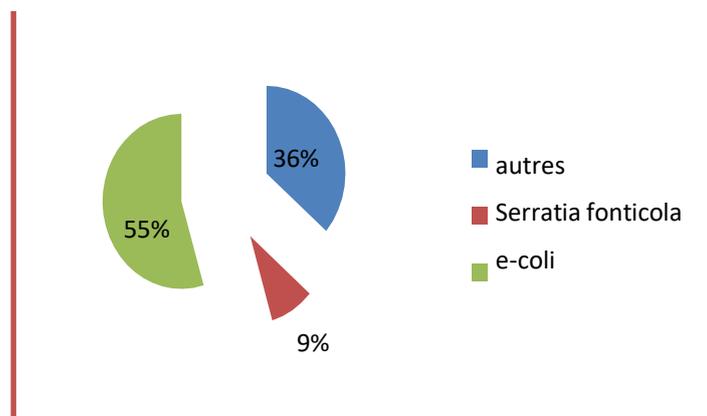


Figure 18 : Les résultats positif et les résultats négatifs.

✓ **Examen bactériologique :**

Sur gélose Hektoen, les colonies d'E coli sont apparues rondes, bombées, à bords nets, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune saumon (lactose +), comme le montre la photo ci-dessous.

Sur gélose Macconkey, Escherichia coli présente des colonies rouge brique, avec ou sans zone de précipités biliaries.

✓ **Test de catalase :**

L'observation de l'Apparition de bulles prouve que la bactérie possède la catalase, donc la bactérie est catalase positive (+).



Figure 19 :Résultat du teste catalase positive (+) des souches de Ecoli. (Photo personnelle)

✓ **Coloration de Gram :**

L'observation microscopique après la coloration de Gram montre la présence des bacilles à Gram négatif colorés en rose.

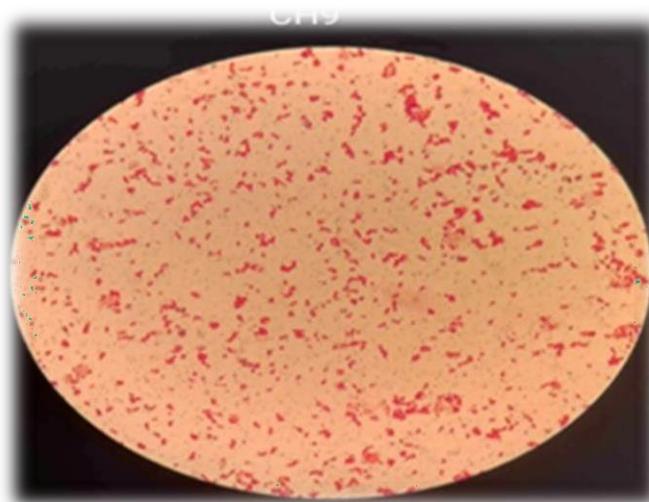


Figure 20 : Aspect microscopique de la coloration de Gram. (Photo personnelle).

✓ Identification biochimique :

▪ Galerie API 10s :

Après l'incubation, on a ajouté les réactifs suivant : Kovax, TDA, En recherchant les profils biochimiques par la galerie API 10S, Les souches identifiées comme E. coli présentent le phénotype ci-dessous

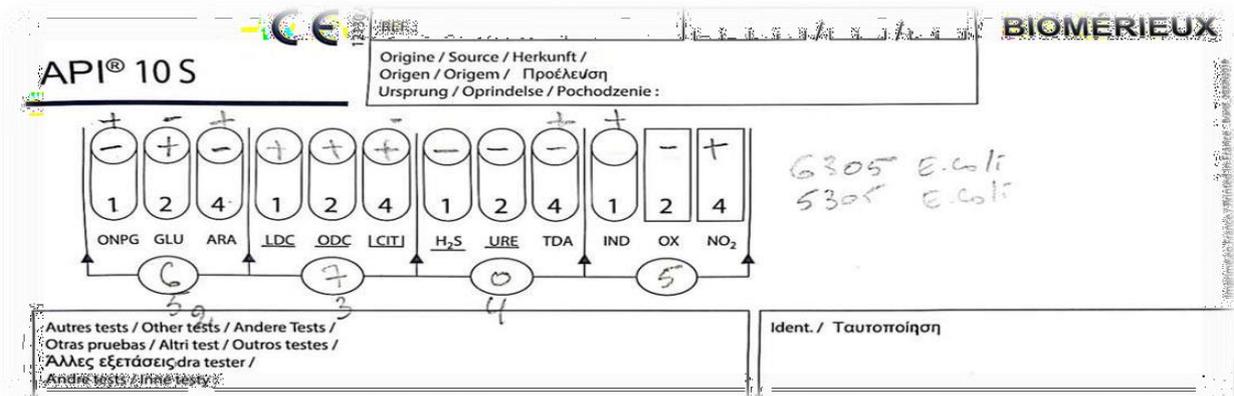


Figure 21 : Profil de E coli sur la galerie Api 10S

✓ **L'antibiogramme :**

Nous avons utilisé une lecture impérative c'est-à-dire qu'on détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec les diamètre mentionnés au niveau de l'EUCAST 2020. (Annexe 4)

- Si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur au diamètre critique : la souche est dite sensible « S ».
- Si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur au diamètre critique : la souche est dite résistante « R ».

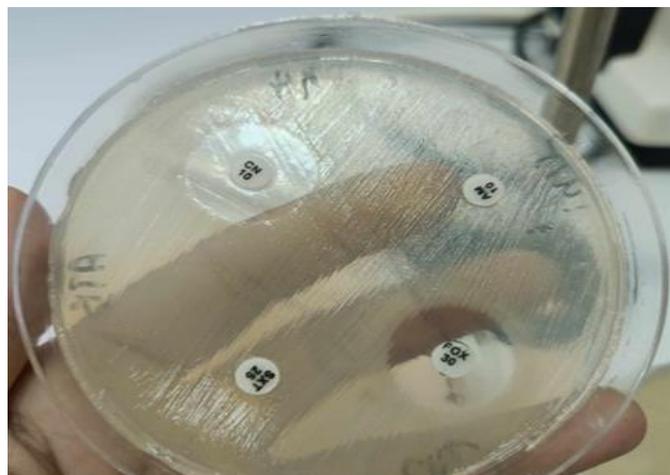


Figure 22 : Antibiogramme après incubation de 24h à 37°C. (Photo personnelle)

Tableau 4 : les résultats de l'antibiogramme.

Prélèvement positive (E-coli)	AM	AMC	GM	SXT	AK	IMP	F	CTX
02	R	R	S	R	S	S	S	S
03	R	S	S	S	S	S	R	S
05	R	R	R	R	S	R	I	I
08	R	R	S	R	S	S	S	S
09	R	R	S	R	R	S	/	/
10	R	R	S	/	S	S	/	S

Fréquences des résistances des isolats E coli :

La fréquence de résistance de 6 souches, vis-à-vis de 8 antibiotiques est présentée dans Le tableau suivant :

Tableau 5 : Fréquences des résistances des isolats d'*E. coli* aux antibiotiques

Antibiotique	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Amoxicilline + ac .clavulanique	16.66%	0%	83.33%
Ampicilline	0%	0%	100%
Nitrofurantoin	25%	25%	50%
cefotaxine	80%	20%	00%
Imipenem	83.33%	0%	16.66%
Amikacin	83.33%	0%	16.66%
Cotrimoxazole	20%	0%	80%
Gentamycine	83.33%	00%	16.66%

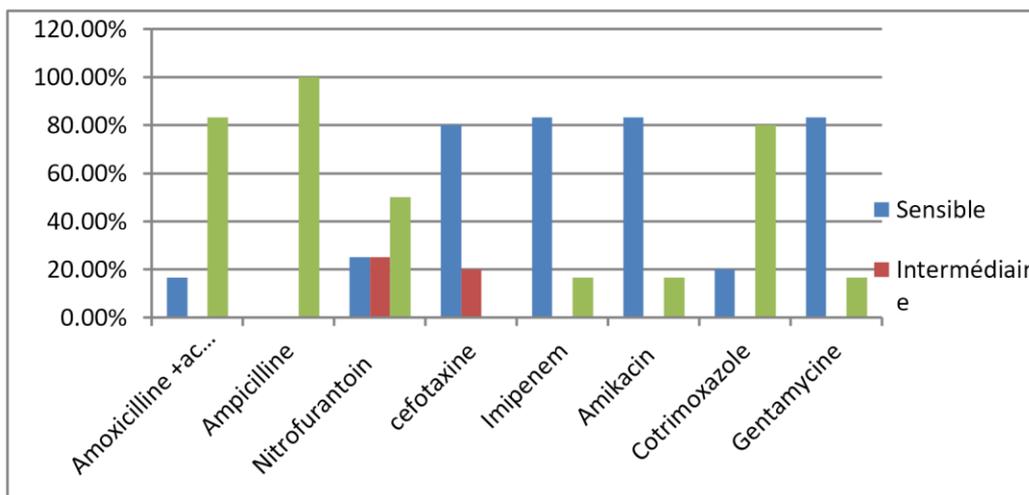


Figure 23:Fréquences des résistances des isolats d'*E. coli* aux antibiotiques

Les résultats obtenus de l’antibiogramme ont montré que les souches d’E. coli présentent une résistance vis à vis les antibiotiques testés à l’exception de cefotaxine et une résistance totale à l’ampicilline.

2.2 Discussion :

L'utilisation des antibiotiques a largement contribué à la diminution du nombre de maladies et de décès associés aux infections bactériennes. Cependant, le recours excessif à ces médicaments a engendré une augmentation alarmante de la résistance aux antibiotiques. La résistance aux antibiotiques est désormais considérée comme un obstacle majeur dans le domaine de la santé au cours de ce siècle

Les résultats obtenus de l'antibiogramme de 06 souches testées par 08 antibiotiques appliqués, ont montré une résistance totale à l'Ampicilline, une résistance très élevée pour l'Amoxicilline+ac.clavulanique, une résistance moyenne pour Nitrofurantoin, une faible résistance pour la Gentamycine, l'Imipenem, l'Amikacin et absence de résistance pour la Cefotaxime.

- **Ampicilline** : les résultats de notre étude ont révélé un taux de résistance de **100%**, ce qui rejoint les constatations d'autres recherches effectuées par ABERKANE et al en 2023, LAMOURI et al en 2018, ainsi que l'étude de Massai et al en 2013 en Algérie qui a rapporté un taux de résistance de **84,5%**. En revanche, une étude menée en Zambie par MUDENDA et al en 2023 a enregistré un taux de résistance plus bas, soit **54%**. Les taux de résistance élevés à l'Ampicilline pourraient être dus à l'utilisation inappropriée et accumulée de cette molécule pour le traitement et la prophylaxie dans les élevages de volailles.
- **L'Amoxicilline + acide clavulanique**, nos résultats ont indiqué un taux de résistance de **83,33%**. Ce taux est supérieur à celui rapporté par BENKLAOUZ et al. (2020) dans l'Ouest de l'Algérie, qui était de **51,72%**, ainsi qu'à celui observé en Corée par KIM et al. (2019) avec un taux de **15,2%**. Cette augmentation de la résistance à ces molécules est préoccupante, étant donné leur utilisation répandue comme agents de première intention dans le traitement des infections.
- **La Gentamicine** nos résultats ont montré un taux de résistance de **16,66%**. Des taux plus élevés ont été rapportés dans d'autres études, tels que **32,50%** enregistré par ABERKANE et al. (2023) en Algérie et **58,09%** rapporté par TANG et al. (2022) en Chine. La fréquence de résistance à la gentamicine dans le monde n'a pas augmenté au fil du temps. Cette observation peut s'expliquer soit par l'interdiction de son utilisation chez les volailles depuis 2001, ce qui signifie que les résistances enregistrées pourraient témoigner de la persistance d'une résistance ancienne, soit par l'utilisation illégale de cette molécule jusqu'à nos jours.

- **La Nitrofurantoïne**, nous avons enregistré un taux de résistance de **50%**. Ce chiffre est plus élevé que celui rapporté par BENKLAOUZ et al. (2020) dans l'Ouest de l'Algérie, qui était de **17,24%**, ainsi que celui rapporté par ABERKANE et al. (2023) dans l'Est de l'Algérie, avec un taux de **10,62%**. Cet antibiotique est interdit en médecine vétérinaire, il est probable que cette résistance soit le résultat d'une utilisation illégale ou d'une résistance croisée.
- **La Cefotaxime** nous avons enregistré un taux de résistance de **0%** similaire à celle BARKAen 2000, cette molécule est utilisée principalement en médecine humaine.
- **La Cotrimoxazole** (Triméthoprime /Sulfaméthoxazole), notre étude a révélé un taux de résistance de **80%**, ce qui est supérieur à celui rapporté par ABREKEN et al. (2023) dans l'est de l'Algérie avec un taux de **60,74%**, ainsi qu'à celui signalé par Liang et al. (2023) avec un taux de **55%**. Il convient de noter que la Cotrimoxazole est utilisée systématiquement en association avec des anticoccidiens pour le traitement et la prévention de ces infections.
- **L'Amikacine** nous avons constaté un taux de résistance de **16,66%**, ce qui est proche du taux de résistance de **15%** rapporté par BODERING et al. (2017). Cette similitude pourrait être expliquée par une faible utilisation de l'Amikacine dans les élevages avicole.
- **L'Imipenem** : nous avons observé un taux de résistance de **16,66%**, tandis que MEGUENNI et al. (2019) n'ont enregistré aucun cas de résistance. Cela suggère que notre résultat pourrait être le résultat d'une résistance croisée.

Conclusion et Recommandations

Conclusion :

Durant notre travail, nous avons étudié la résistance de 06 souches *Escherichia coli* isolés de 4 Des élevages de poulet de chair au niveau de la wilaya de Biskra. Ces souches présentent une résistance de **100%** vis à vis à l'**Ampicilline**, une résistance très élevés vis à vis **Amoxicilline + ac . clavulanique** , **Cotrimoxazole**, une résistance moyenne pour **Nitrofurantoin**, une faible résistance pour **la Gentamycine** ,l'**Imipenem** ,l'**Amikacin** et absence de résistance pour **la Cefotaxine**.

L'utilisation abusive et non contrôlée des antibiotiques dans la prévention et le traitement des maladies aviaires est largement considérée comme la principale cause de l'émergence de souches résistantes d'*Escherichia coli* (E.coli). Dans cette optique, il devient impératif de renforcer les initiatives de vulgarisation et de soutien technique auprès des éleveurs de poulets de chair, de manière à améliorer la gestion technique des élevages et ainsi minimiser les maladies induites par les mauvaises pratiques d'élevage. Par conséquent, une réduction significative de l'utilisation d'antibiotiques serait envisageable, faisant ainsi un pas vers une utilisation plus responsable.

Il est essentiel de garantir une utilisation appropriée des antibiotiques en médecine vétérinaire. La prescription de ces médicaments doit se baser sur des principes scientifiques, tels que l'antibiogramme permettant de proposer des traitements bien raisonnés et ciblés à chaque cas.

Recommandations :

Les résultats de notre travail montrent la résistance des souches d'E. coli isolées des élevages de poulet de chair au niveau de la région de Biskra. Afin de mettre en évidence l'origine et l'évolution de cette résistance, nous proposons de :

- Conseiller et sensibiliser les éleveurs pour l'application des mesures de biosécurité dans les fermes; (conditions d'hygiène, cloisonnement, assainissement, vide sanitaire, etc.) afin de limiter l'introduction et la progression des facteurs d'apparition des maladies aviaires.
- Promouvoir l'usage raisonné et efficient des antibiotiques en pathologies bactériennes aviaires, afin de minimiser l'émergence des souches résistantes.
- Encouragement de l'utilisation d'alternatives naturelles telles que les probiotiques et la vaccination.
- la recherche des alternatives au-delà des antibiotiques est l'objectif futur de la médecine moderne
(L'utilisation des huiles essentielles extraites des plantes médicinales).
- Faire des études sur la résistance d'E. coli et des autres espèces des entérobactéries
- Faire des études sur le développement de mécanismes d'adaptation des germes pathogènes dans notre environnement.

Références bibliographiques

1. **Avril, J.L et Fauchere, J.L. (2002)** .bactériologie générale et médicale. Ed Ellipse. 141p.
2. **Ayad, A. (2017)**. Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abou BekrBelkaid–Tlemcen.105p.
3. **Alain BODERING, Guelmbaye NDOUTAMIA, Bongo Nare NGANDOLO et Albert NGAKOU (2017)**Utilisation des antibiotiques et profil de résistance des souches de *Salmonella* spp et *Escherichia coli* isolées des exploitations avicoles des villes de N'Djaména et Doba au Tchad.Int. J. Biol. Chem. Sci. 11(4): 1669-1684.
4. **Aberkane, C., Messai, A., Messai, C. R. and Boussaada, T. (2023)**.Antimicrobialresistance pattern of avianpathogenic*Escherichia coli* withdetection of extended-spectrum β -lactamase-producingisolates in broilersineastAlgeria. Veterinary World, 16(3), 449-454.
5. **Bouka, M. (2013)**. Etude du profil de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus Aureus*. Mémoire Master. Faculté des sciences et techniques – FES Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.Maroc.58p.
6. **Bensemmane, A., Tber, A., Zarrouk, K. 1992**, “Dictionnaire des médicaments vétérinaires au maghreb”, 1ère édition,.
7. **Boulbair I . ,2017**-Etude de la colibacillose aviaire isolement et identification et antibiogramme (region tiaret et tissemsilt).mémoire de magister,université ibn khaldoun,tiaret ,62P .
8. **BryskierA., acar J., C M. et moreillion PH , 1999**. Antibiotiques : agents antibactérien et antifongiques
9. **BarkaMohammed salih (2000)**. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées de la volaille dans l'Ouest Algérien.(mémoire de maitrise inédit) . Université de Tlemcen.
10. **Benklaouz, M. B., Aggad, H. and Benameur, Q. (2020)**.Resistance to multiple first-line antibioticsamong*Escherichia coli* frompoultry in Western Algeria. Veterinary World, 13(2), 290-295.
11. **Carmeli, Y.C. (2003)**. The impact of antimicrobial resistance on health and

Références bibliographiques

- economic outcomes. Clin Infect. 36(11):1433-F7
12. **Courvalin, P., Denis, F., Ploy, M.C., garilhe, M.P.D., Trieu-Culot, P., Universalis.(2001)** "Antibiotiques" consultee le 8 septembre [En ligne] <http://www.universalis.edu.com/encyclopedie/antibiotiques/>.
 13. **Chardon h. et Brugere h ,2014.** Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. Consulté en ligne : www.civ-viande.org
 14. **Chatellet, M-C ,2007.** Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin. Th.Méd. Vét. Maisons-Alfort.
 15. **Cunha m. p. v., de oliviera m. g. x., de oliviera m. c. c., da silva k. c., gomes c. r., moreno a. m. and knobl t,2014.** Virulence Profiles, Phylogenetic Background, and Antibiotic Resistance of Escherichia coli Isolated from Turkeys with Airsacculitis. Scientific world journal 14: 289024. Cunha M. P.V., Saidenberg A. B., Moreno A. M., Ferreira A. J. P.,
 16. **Dho-Moulin, M., Fairbrother, J.M. ,1999.** Avian pathogenic Escherichia coli (APEC). Vet. Res. 30:299–316.
 17. **Dziva, Francis., Mark, P. Stevens., 2008 ;** "Colibacillosis in poultry : unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic Escherichia coli in their natural hosts", division of microbiology, Berkshire, 37(4), 355- 366.
 18. **Fauchère, J.L et Avril J.L.(2002)** Bactériologie général et médicale .Ellipess Edition Marketing S. A. 239p.
 19. **Fofana, A. (2004).** Etude de la résistance aux antibiotique des souches de salmonella spp et Escherichia coli isolées des viandes poulet de chair au Sénégal. Thèse de Magistère. Faculté des Sciences Techniques (FST). Ecole Inter-Etats, des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV). Sénégal. 28p
 20. **Farah z, Saim s, Irtani g., 2022** Étude de l'activité antibiofilm de l'extrait aqueux des écorces de Juglans regia. L. mémoire de fin d'étude, université MOULOUD Mammeri, Tiziouzou, 51p.
 21. **Fontaine M., 1993** _formulaire vétérinaire de pharmacologie ,de thérapeutique et d'hygiène .ED. Lyon .560p .
 22. **Gross W.B, 1991.** Colibacillosis. In : Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., Reid W.M. & Yoder J.H.W. (Eds), Disease of Poultry. 9th ed. Iowa State University Press, Ames. p.138-144.
 23. **Gross WG: Diseases due to Escherichia coli in poultry. In: Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon. Cab

Références bibliographiques

- international: Wallingford, p 237-259.
24. **Guillemot D, Brisabois A, Brugere H, Guillot J F, Laval A, Millemann Y et al.2006.**Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Disponible en ligne
 25. **Guergueb Nadjah ,(2024)** Risk factors for chloramphenicol resistance in *Escherichiacoli*isolated from poultry meat in Biskra (Algeria), 7 (2) ,1-15.
 26. **Halfaoui z,2015 .** Isolement et identification des *Escherichia coli* pathogènes d'origine aviaire ,sérotypage et recherche de la résistance aux antibiotiques .mémoire de magistère,université SAAD Dahlab , Blida,104P .
 27. **Hammoudi A., Mouats A. et halbouche M,2009.**Sérotypes, antibiorésistance et identification de gènes de virulence des *Escherichia coli* pathogènes dans les élevages avicoles en Algérie. Research Gate:40-47.
 28. **Kim, Y. B., Yoon, M. Y., Ha, J. S., Seo, K. W., Noh, E. B., Son, S. H. and Lee, Y. J. (2019).**Molecular characterization of avianpathogenic *Escherichia coli* frombroilerchickenswithcolibacillosis. *PoultryScience*, 99(2), 1088-1095.
 29. **Lahellec, C. (1988).** Technologie et hygiène de la préparation: leur Influence sur la qualité microbiologique, physique, et organoleptique des carcasses. In: *Aviculture française: Informations Techniques*. (687-697). -Paris: Ed: ROSSET R. 816p.
 30. **Le Minor C. et Richard C. (1993).** Méthodes de laboratoirepour identification des entérobactéries. Institut Pasteur, France. 217p.
 31. **Le Minor, L., Popoff, M.Y., Bockemuhl , J.(1990).**Supplement 1989 to the kauffmann-white scheme . *Res. Microbiol.* 141: 1173-1177.
 32. **La Ragione R. M. and Woodward M. J. (2002).** Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia. *Research in Veterinary Science* 73: 27- 35.
 33. **Laaram M., Barguigua A., Nayme K., Akilas A., Zerouali K., EL Mdaghri N. and Timimouni M,2017.**Occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance and virulence genes in avian *Escherichia coli* isolates from Algeria. *J Infect DevCtries*11(2):143-151.
 34. **Ledoux A. L., 2003 :** Etude de la transmission d'*Escherichia Coli* chez la volaille. Thèse: Med. Vet : ENNVN: 003
 35. **Lamouri N. Messelem M.(2018).**Antibiorésistance des souches *Escherichia coli* d'origine aviaire. Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-

Références bibliographiques

- Témouchet. 78 p
36. **LEVY S.B,1998.** Multidrug resistance--a sign of the times. N. Engl. J. Med., , 338, 1376-1378.
 37. **Meguenni, N., Chanteloup, N., Tourtereau, A., Ahmed, C. A., Bounar-Kechih,S. and Schouler, C. (2019) Virulence and antibioticresistance profile ofavian Escherichia coli strainsisolatedfromcolibacillosislesions in central of Algeria.Veterinary world, 12(11):1840-1848.**
 38. **Malalba,A. (2012).** La colibacillose du poulet du chaire : Etude anatomique et circonstance d'apparition dans la zone périurbaine de DAKAR (SENEGAL). Thèse Doctorat. Ecole inter Etat des Science et Médecinev étérinaire .Université Cheikh Anta Diop de DAKAR.SENEGAL.32p
 39. **Martel J-L. et Chaslus -Dancla E,2000.** Aspects pratiques de la résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire. 9ème CEMI.
 40. Miranda, J.M., Vasquez, B.I., Fente C.A., Barros-Velasquez, J., Cepeda A., and Franco
C.M. (2008). Evolution of resistance in poultry intestinal Escherichia coli during three commonly used antimicrobial therapeutic treatments in poultry. Poultry science, **87**:1643-1648.
 41. **Mohammedi, D. (2008).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Consulté le 19 juillet[En ligne]. <http://www.sante.dz/aarn/classification>.
 42. **Mudenda, S., Malama, S., Munyeme, M., Matafwali, S. K., Kapila, P., Katemangwe, P., Mainda, G.,Mukubesa, A. N., Hadunka, M. A. and Muma, J. B. (2023).**Antimicrobialresistance profiles of Escherichiacoliisolatedfromlayinghens in Zambia: Implications and significance on one health. JAC-AntimicrobialResistance, 5(3), dlad060.
 43. **Nana, G.S. (2000).** Les points à risque de la contamination microbiologique de la viande depoulet de chair dans la région de Dakar. Th : Méd. Vét.: Dakar; 8
 44. **Nouri, M et Ziadi , C .F. (2015) .**Etude bactériologique et résistance aux antibiotiques de Klebsiella pneumoniae. Mémoire de Master. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université des Frères Mentouri Constantine. 45p.
 45. **Oulymata, G. (2007).** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatifs. Thèse doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 140p

Références bibliographiques

46. **Philippon, A ,2010.** Résistance des bactéries aux antibiotiques. Cours de la Faculté de Médecine de Paris Descartes. [Enligne]. Disponible sur : <http://cstvn.free.fr/Downloads/Philippon1.pdf>
47. **Perriere, G. (1992)** .Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation certains aspects de l'expression des gènes chez E. coli UCBL. Thèsedoctorat.Université de Lyon I. France. 135p.
48. **Rodriguez-Martinez J.M., Velasco C., Briales A., Garcia I., Conejo M.C., Pascuala 2008.** Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*,**61**, 1240-1243.
TwoDifferent Types of BroilerFarms in Hebei Province. *Animals*, 13(20): 3194.
49. **Tang, B., Wang, J., Zheng, X., Chang, J., Ma, J., Wang, J., Ji, X., Yang, H. and Ding, B. (2022).**Antimicrobialresistance surveillance of Escherichia coli fromchickens in the Qinghai Plateau of China.*Frontiers in Microbiology*, 13, 885132.

Les Annexes :

Annexe 1: Matériels utilisés.

a. Milieux de culture :	b. Les réactifs:	c. Les produits utilisés:
Gélose Mac conkey	Violet de gentiane,	Huile à immersion
Milieu Mueller Hinton	Fuschine	Eau oxygénée 10 volumes
Héctoén	Iugol	Alcool 70°;
Pour l'identification biochimique nous avons utilisé la galerie API10S	Réactif de Kovax	Eau physiologique 0,9%
	Huile de paraffine	lame - lamelle
	TDA	boîtes de pétries.
		écouvillons stérile

Composition de milieu de culture

• ***Hektoen:***

Milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, des eaux, des produits laitiers et des produits alimentaires.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

- Proteoseptone 12g
- extrait de levure 3g
- chlorure de sodium 5g
- Sels biliaires 9g
- Thiosulfate de sodium 5g
- Citrate de fer ammoniacal 1,5g
- lactose 12g
- salicine 2g
- saccharose 12g
- Fuschine acide 0,1g
- Bleu de bromothymol 0,065g
- Agar 14g
- Ph 7,5 (environ)

- **Gélose MacConkey:**

Milieu sélectif pour l'isolement des *Salmonella*, des *Shigella* ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu: Peptone pancréatique de gélatine : 17,0g.

Tryptone: 1,5.g

Peptone pepsique de viande: 1,5. Lactose : 10,0. g

Sels biliaires : 1,5. g

Sodium chlorure: 5,0.g

Rouge neutre: 0,030.g

Cristal violet : 0,001.g

Agar agar : 13,5.g

Ph du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7,1 \pm 0,2$.

- **Mueller Hinton:**

Milieu pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques et aux sulfamides.

Composition:

- Extrait de viande 3g

- Hydrolysate de caseine 17,5g

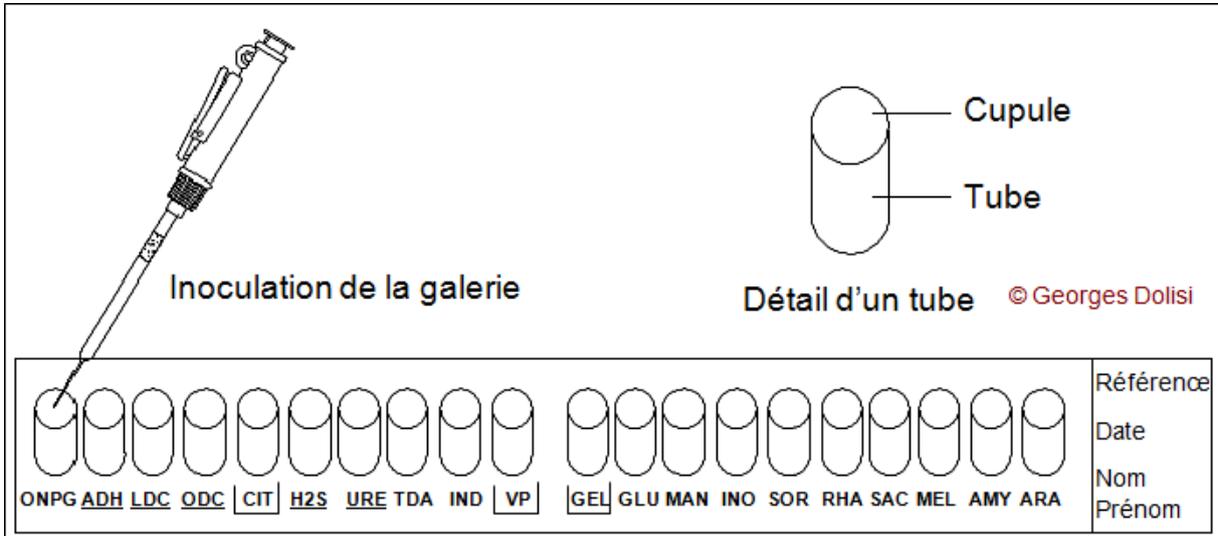
- Amidon 1,5g

- Agar 16g

- Eau distillée 1l

- Ph 7,3.

Annexe2: inoculation de la galerie:



ap[®] 10 S

080520 - FR - 2006/02

ap[®] 10 S

080520 - FR - 2006/02

CONTROLE DE QUALITE

Les milieux, galeries et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche 1. *Escherichia coli*/ ATCC[®] 25922 de préférence ou l'une des souches suivantes :

- 2. *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 4. *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 51331
- 3. *Proteus mirabilis* ATCC 35559

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	ONPG	GLU	ARA	LDC	ODC	[CIT]	H ₂ S	URE	TDA	IND	OX	NO ₂
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Profils obtenus après 18-24 H d'incubation, après culture des souches sur gélose Trypase Soja au sang de mouton. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

- Le système API 10 S est destiné à l'identification des *Enterobacteriaceae* et bacilles à Gram négatif non fastidieux les plus fréquemment rencontrés dans des prélèvements cliniques ou autres (voir Tableau d'identification en fin de notice), et à eux seuls.
- Des tests complémentaires sont parfois nécessaires pour séparer deux espèces. Pour choisir l'une de ces espèces, il faudra tenir compte du contexte clinique ou autre de l'origine du prélèvement, des aspects micro et macroscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, ainsi que des valeurs des pourcentages d'identification (% ID) et de l'indice de typicité (T) (Ex : pour un prélèvement clinique, une faible discrimination entre *Escherichia coli* et *Serratia odorifera* orientera vers *Escherichia coli*, surtout si les % ID et valeur de l'indice T sont élevées et en faveur de cette espèce, *E. coli* étant fréquent et *S. odorifera* très rare dans les prélèvements cliniques). La galerie API 20 E qui comporte 10 tests complémentaires, peut être utilisée pour des identifications plus approfondies. Dans ce cas, les microorganismes peuvent être identifiés à l'aide du Catalogue Analytique API 20 E.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

PERFORMANCES

- *Enterobacteriaceae*
- 4775 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :
 - 94,01 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
 - 2,03 % des souches n'ont pas été identifiées.
 - 3,96 % des souches ont été mal identifiées.
- autres bacilles à Gram négatif non fastidieux
- 1285 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :
 - 95,72 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
 - 1,48 % des souches n'ont pas été identifiées.
 - 2,80 % des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux. Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incolore	jaune (1)
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUCOSE) (3)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune-gris
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARABINOSE) (3)	bleu / bleu-vert	jaune
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DeCarboxylase	jaune	rouge / orange
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DeCarboxylase	jaune	rouge / orange
[CIT]	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (2)
H ₂ S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin isané
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orange
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DesAminase	jaune	TDI / immédiat marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	incolore vert pâle / jaune	JAMES / immédiat rose
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-Oxydase	incolore	(voir notice du test oxydase)
NO ₂	(tube GLU)	-	production de NO ₂	jaune	NIT 1 • NIT 2 / 2-5 min rouge

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (2) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (3) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes. L'oxydation commence dans la cupule.
- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

TABLEAU D'IDENTIFICATION	p. I
LISTE DES PROFILS NUMERIQUES	p. II
BIBLIOGRAPHIE	p. IV
TABLE DES SYMBOLES	p. V

ATCC est une marque utilisée, déposée et/ou enregistrée appartenant à American Type Culture Collection.



BIOMÉRIEUX

bioMérieux SA
 au capital de 12 020 370 €
 673 620 399 RCS LYON
 69280 Marcy-l'Étoile / France
 Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 00
 http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
 Box 15909
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tél. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11



Imprimé en France

Annexe3: tableau de lecture de la galerie Api 10S

Annexe4. Tableau de lecture des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *E. coli*.

Table de lecture 9 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*

Conditions du test :

Milieu : Gélose Mueller- Hinton

Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland

Incubation : 35°C, atmosphère ordinaire ; 18 h.

Contrôle de qualité :
Escherichia coli ATCC 25922

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Sensible	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
β-lactamines :						
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 32	≤ 8
Amoxicilline+Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4
Cefazoline	30µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefotaxime	30µg	≤ 14	15 - 22	≥ 23	≥ 64	≤ 8
Ceftroxone	30µg	≤ 13	14 - 20	≥ 21	≥ 64	≤ 8
Imipenème	30µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	≤ 4
Aminosides						
Amikacine	30µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
Quinolones						
Ofloxacin	5µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16	≥ 8	≤ 2
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	≤ 1
Autres						
Chloramphenicol	30µg	≤ 12	13 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Furanes	300µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 128	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16	≥ 256	≤ 64
Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/58

Table de lecture 19 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Yersinia pestis*

Conditions du test :

Milieu : Gélose Mueller-Hinton

Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland.

Incubation : 35°C ± 2° ; atmosphère ordinaire ; 24h à 48h

Contrôle de qualité :

Escherichia coli ATCC 25922

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Aminosides :							
Streptomycine	10µg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Gentamicine	10µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Quinolones :							
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Cyclines :							
Doxycycline	30µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
Sulfamides et associés :							
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 4/76	-	≤ 2/38
Phénicolés :							
Chloramphénicol :	30µg	≤ 12	13-17±	≥ 18	≥ 32	-	≤ 8

LAM EL HAYET
Rapport du laboratoire

Imprimé 5 mai 2017 07:06 CDT

Client bioMérieux : 16308

Nom du patient : CH08, CH08

ID du patient : 08

Lieu :

Médecin :

ID labo : 08

Numéro d'isolat : 2

Numération :

Germe sélectionné : Escherichia coli

Source :

Prélevé :

Commentaires :	

Résultats Antibiogramme	Heure de l'analyse : 8,17 heures		État : Final		
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	>= 32	R	Amikacine	<= 2	S
Amoxicilline/acide clavulanique	16	I	Gentamicine	<= 1	S
Pipéracilline/tazobactam	<= 4	S	Ciprofloxacine	>= 4	R
Céfazoline	<= 4	S	Fosfomycine	<= 16	S
Céfoxitine	<= 4	S	Nitrofurantoïne	<= 16	S
Céfotaxime	<= 0,25	S	Chloramphénicol	>= 64	R
Ceftazidime	<= 0,12	S	Colistine		
Ertapénème	<= 0,12	S	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	>= 320	R
Imipénème	<= 0,25	S			

+= Médicament déduit * = Modification AES ** = Modification Utilisateur

Résultats AES	
Fiabilité :	Concordant

LAM EL HAYET
Rapport du laboratoire

Client bioMérieux : 16308 Imprimé 5 mai 2017 07:05 CDT

Nom du patient : CH08, CH08 ID du patient : 08
Lieu : Médecin :
ID labo : 08 Numéro d'isolat : 1

Numération :
Germe sélectionné : Escherichia coli

Source : Prélevé :

Commentaires :	

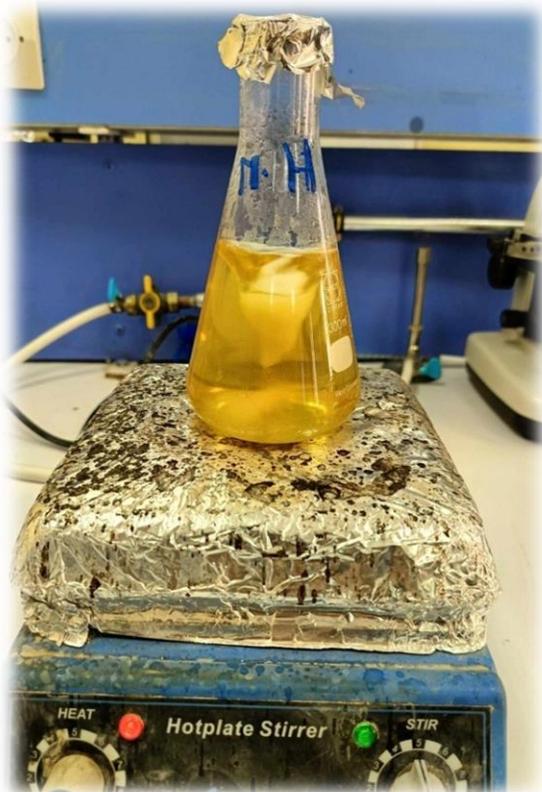
Informations sur l'identification	Heure de l'analyse : 4.77 heures	État : Final
Germe sélectionné	91% Probabilité	Escherichia coli
Commentaires sur l'ident.	Profil biochimique :	2505610540426610

Détails biochimiques																	
2	APPA	-	3	ADO	+	4	PyrA	-	5	IARL	+	7	dCEL	-	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	SKG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Page 1 / 1

Annexe6: résultat de l'échantillons08sur le Vitek (indentification

Annexe 7 : Quelques Photos de la Préparation de milieu de culture





Résumé

Depuis quelques années, les entérobactéries, en particulier *Escherichia coli*, préoccupent le secteur de la santé en raison de leur résistance croissante aux antibiotiques. Afin de déterminer le profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des élevages de poulets de chair dans la région de Biskra. Un total de 6 souches provenant de prélèvements de foie de poulet ont été isolées et identifiées sur des milieux sélectifs, notamment Macconkey et Hektoen. La sensibilité aux antibiotiques a été évaluée à l'aide de la méthode classique de l'antibiogramme, utilisant le milieu gélosé Muller-Hinton, selon les normes de l'EUCAST 2022, ainsi qu'à l'aide d'un automate d'identification microbiologique (VITEK).

Les 6 souches testées ont révélé des niveaux de résistance très préoccupants. En effet, toutes les souches (100%) étaient résistantes à l'Ampicilline (AMP), tandis que 83,33% des souches étaient résistantes à l'Amoxicilline (AMC) et 80% des souches étaient résistantes au Cotrimoxazole (SXT). La résistance était de niveau moyen pour 50% des souches à la Nitrofurantoin (F). De faibles niveaux de résistance ont été observés chez seulement 16,66% des souches pour la Gentamicine (GM), l'Amikacine (AK) et l'Imipenem (IMP). Pour la Cefotaxime (CTX), aucune résistance n'a été détectée.

Cette antibiorésistance est alarmante et entraîne des pertes économiques considérables, notamment en termes de baisse de production et de productivité, dans les élevages de poulet de chair. D'une part, elle provoque l'échec des traitements, ce qui aggrave la situation. D'autre part, elle représente un énorme risque pour la santé humaine, car elle favorise la transmission de bactéries résistantes à l'Homme, en particulier par le biais d'aliments d'origine animale.

Mot-clé : poulet de chair, *Escherichia coli*, Antibiotiques, Résistance aux antibiotiques.

Summary

In recent years, enterobacteria, particularly *Escherichia coli*, have been of concern to the health sector due to their increasing resistance to antibiotics. In order to determine the antibiotic resistance profile of *Escherichia coli* strains isolated from broiler chicken farms in the Biskra region. A total of 6 strains from chicken liver samples were isolated and identified on selective media, notably Macconkey and Hektoen. Antibiotic sensitivity was assessed using the classic antibiogram method, using Muller-Hinton agar medium, according to EUCAST 2022 standards, as well as using an automated microbiological identification (VITEK).

The 6 strains tested revealed very worrying levels of resistance. Indeed, all strains (100%) were resistant to Ampicillin (AMP), while 83.33% of the strains were resistant to Amoxicillin (AMC) and 80% of the strains were resistant to Cotrimoxazole (SXT). Resistance was of average level for 50% of the strains to Nitrofurantoin (F). Low levels of resistance were observed in only 16.66% of strains for Gentamicin (GM), Amikacin (AK) and Imipenem (IMP). For Cefotaxime (CTX), no resistance was detected.

This antimicrobial resistance is alarming and leads to considerable economic losses, particularly in terms of reduced production and productivity, in broiler farms. On the one hand, it causes treatment to fail, which worsens the situation. On the other hand, it represents an enormous risk for human health, because it promotes the transmission of resistant bacteria to humans, in particular through foods of animal origin.

Keyword: broiler chicken, *Escherichia coli*, Antibiotics, Antibiotic resistance.

ملخص

في السنوات الأخيرة، كانت البكتيريا المعوية، وخاصة الإشريكية القولونية، مصدر قلق للقطاع الصحي بسبب مقاومتها المتزايدة للمضادات الحيوية. من أجل تحديد خصائص مقاومة المضادات الحيوية لسلاسل الإشريكية القولونية المعزولة من مزارع الدجاج اللحم في منطقة بسكرة، تم عزل وتحديد 6 سلالات من عينات كبد الدجاج على أوساط انتقائية، ولا سيما ماكونكي وهيكتون. تم تقييم الحساسية للمضادات الحيوية باستخدام طريقة المضادات الحيوية الكلاسيكية، باستخدام وسط Muller-Hinton agar، وفقاً لمعايير EUCAST 2022، بالإضافة إلى استخدام التحديد الميكروبيولوجي الآلي (VITEK).

وكشفت السلالات الستة التي تم اختبارها عن مستويات مقاومة مثيرة للقلق للغاية. في الواقع، كانت جميع السلالات (100%) مقاومة للأمبيسلين (AMP)، في حين كانت 83.33% من السلالات مقاومة للأموكسيسيلين (AMC) و80% من السلالات كانت مقاومة للكوتريموكسازول (SXT). وكانت المقاومة متوسطة المستوى لدى 50% من السلالات للنيتروفورانتوين (F). وقد لوحظت مستويات منخفضة من المقاومة في 16.66% فقط من سلالات الجنتاميسين (GM)، والأميكاسين (AK)، والإيميبينيم (IMP). بالنسبة للسيفوتاكسيم (CTX)، لم يتم اكتشاف أي مقاومة.

تعتبر مقاومة مضادات الميكروبات مثيرة للقلق وتؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة، لا سيما من حيث انخفاض الإنتاج والإنتاجية في مزارع الدجاج اللحم. فمن ناحية يتسبب في فشل العلاج مما يزيد الحالة سوءاً. ومن ناحية أخرى، فإنها تمثل خطراً هائلاً على صحة الإنسان، لأنها تشجع على انتقال البكتيريا المقاومة إلى الإنسان، وخاصة من خلال الأطعمة ذات الأصل الحيواني.

الكلمات المفتاحية: الدجاج اللحم، الإشريكية القولونية، المضادات الحيوية، مقاومة المضادات الحيوية.