



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCE

Domaine : Sciences de la
nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie

Réf. :

Présenté et soutenue par :
Toufik AMAIRI

Le : 01/07/2021

Thème

Résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie

Jury :

| | | |
|------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| Président | Mme K. Deghnouche | Pr. Université de Biskra |
| Promoteur | Mr A. Moussi | Pr. Université de Biskra |
| Examineur | Mr A. Boubendir | MCA. Centre universitaire de Mila |
| Examineur | Mr L. Loucif | MCA. Université de Batna 2 |

Année universitaire : 2020 - 2021

Dédicaces

A mes chers parents

A mon épouse et à mes deux filles hadjer et racha

A mes frères et mes sœurs

A tous mes amis et mes collègues

Je dédie encore cette thèse à l'âme de Professeur yahia mouloud, mon ancien encadreur, que inchallah repose éternellement en paix, et que le seigneur lui réserve le paradis comme destination.

Remerciements

Au Professeur Deghnouche Kahramen de la faculte de science exacte et science de la nature et de la vie de l'universite mohamed khider biskra.

Pour avoir accepté de présider la soutenance de ma thèse.

Hommages Respectueux.

Au Professeur Moussi Abdelhamid de la faculté de Science exacte et Science de la nature et de la vie de l'université Mohamed Khider Biskra.

Pour avoir encadrer ma thèse, pour ses conseils, et son soutien,

Très sincères Remerciements.

Au Docteur Boubendir Abdelhafid, maître de conférences « A » au centre universitaire de Mila.

Pour avoir accepté à faire partie de mon jury de thèse,

Amitiés et sincères remerciements.

Au Docteur Loucif Lotfi maître de conférences « A » à l'université Batna 2.

Pour nous avoir fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Sincères remerciements.

A Madame Mokhtari Wassila et l'ensemble de l'équipe de laboratoire d'hygiène de la daïra d'Arris.

Pour m'avoir accueillie au sein de leur établissement et m'avoir permis de réaliser mon projet.

Aux Docteurs vétérinaires Gulfen Brahim et Moussaoui Djamel.

Pour m'avoir permis de réaliser des prélèvements et de distribuer les questionnaires. C'est grâce à son aide que cette étude est rendu possible.

A l'ensemble des vétérinaires, éleveurs et propriétaires d'abattoirs avicoles.

Pour accepter de participer volontaire à notre étude.

Table des matières

| | |
|---|-------------|
| Liste des figures | vi |
| Liste des tableaux | vii |
| Liste des abréviations | viii |
| Liste des annexes | x |
| Introduction | 1 |
| Partie I : Étude bibliographique | |
| I.1. Généralités sur <i>Escherichia coli</i> | 2 |
| I.1.1. Définition et classification | 2 |
| I.1.2. Structure de la bactérie..... | 3 |
| I.1.2.1. Enveloppe bactérienne | 3 |
| I.1.2.2. Lipopolysaccharides | 4 |
| I.1.2.3. Capsule | 5 |
| I.1.2.4. Appendices périphériques | 5 |
| I.1.2.4.1. Flagelles | 6 |
| I.1.2.4.2. Pili ou fimbriae | 6 |
| I.1.2.5. Cytoplasme | 7 |
| I.1.2.6. Nucléotide | 7 |
| I.1.2.7. Plasmides | 8 |
| I.1.2.8. Îles génomiques & îlots de pathogénicité | 9 |
| I.1.2.9. Intégrons | 10 |
| I.1.2.10. Organisation du génome d' <i>E. coli</i> | 11 |
| I.1.3. Caractères culturels et biochimiques d' <i>E.coli</i> | 12 |
| I.2. Différents groupes d' <i>Escherichia coli</i> | 14 |
| I.2.1. Souches commensales..... | 14 |
| I.2.2. Souches pathogènes | 15 |
| I.2.2.1. <i>E. coli</i> diarrhéiques | 17 |
| I.2.2.2. <i>E.coli</i> extra-intestinal | 17 |
| I.2.2.3. Avian pathogenic <i>E.coli</i> (APEC) | 17 |
| I.2.2.3.1. Risque zoonotique des APEC | 18 |
| I.2.2.3.2. Facteurs de virulence | 19 |
| I.2.2.3.3. Colisepticémie chez le poulet de chair | 20 |
| I.3. Utilisation des antibiotiques & résistance bactérienne | 22 |
| I.3.1. Antibiothérapies des infections dues à <i>Escherichia coli</i> aviaire..... | 22 |
| I.3.2. Autres usages des antibiotiques dans les élevages avicoles..... | 23 |
| I.3.2.1. Traitement préventif (prophylactique) | 23 |
| I.3.2.2. Additif alimentaire | 24 |
| I.3.3. Relation entre l'usage des antibiotiques et le développement de la résistance..... | 24 |
| I.3.4. Définition et mesure d'antibiorésistance | 26 |
| I.3.4.1. Définition | 26 |
| I.3.4.2. Mesure..... | 26 |
| I.3.4.2.1. Méthode par dilution..... | 26 |
| I.3.4.2.2. Méthode par diffusion..... | 27 |
| I.3.5. Origines et mécanismes de la résistance | 29 |

| | |
|---|----|
| I.3.5.1. Résistance naturelle | 29 |
| I.3.5.2. Résistance acquise | 31 |
| I.3.5.2.1. Mutations chromosomiques | 31 |
| I.3.5.2.2. Acquisition de gènes | 31 |
| I.3.5.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques..... | 32 |
| I.3.5.3.1. Modification de la cible d'antibiotique | 32 |
| I.3.5.3.2. Inactivation enzymatique d'antibiotique..... | 33 |
| I.3.5.3.3. Limitation d'absorption d'antibiotique | 34 |
| I.3.5.3.4. Efflux de l'antibiotique à l'extérieur..... | 35 |
| I.3.6. Multirésistance | 36 |
| I.3.6.1. Résistance croisée | 36 |
| I.3.6.2. Co-résistance..... | 36 |
| I.3.7. Antibiorésistance chez les animaux d'élevage, quelles conséquences ? | 37 |
| I.3.7.1. Transfert de la résistance | 37 |
| I.3.7.2. Pertes économique | 38 |

Partie II : Étude expérimentale

| | |
|--|----|
| II.1. Zones d'étude..... | 40 |
| II.2. Stratégie d'étude | 41 |
| II.3. Matériel et méthode | 42 |
| II.3.1. Matériel..... | 42 |
| II.3.1.1. Poulailleurs | 42 |
| II.3.1.2. Abattoirs | 42 |
| II.3.1.3. Milieux de culture et réactifs utilisés..... | 43 |
| II.3.2. Méthode | 45 |
| II.3.2.1. Prélèvements des échantillons et acheminement au laboratoire..... | 45 |
| II.3.2.2. Analyses bactériologiques | 47 |
| II.3.2.3. Sérotypage | 48 |
| II.3.2.4. Antibiogramme..... | 49 |
| II.3.2.5. Analyse statistique | 50 |
| II.4. Objectifs et méthodologie de l'enquête..... | 52 |
| II.4.1. Elaboration du questionnaire | 52 |
| II.4.2. Choix des vétérinaires | 54 |
| II.4.3. Diffusion et remplissage du questionnaire | 54 |
| II.4.4. Collecte des questionnaires et analyse des résultats..... | 56 |
| II.5. Résultats de laboratoire | 57 |
| II.5.1. Distribution globale des souches isolées | 57 |
| II.5.2. Morphologie et caractères biochimiques | 57 |
| II.5.3. Résultats de sérotypage | 60 |
| II.5.4. Résultats d'antibiogramme | 61 |
| II.5.5. Multirésistance chez les AFEC et APEC | 63 |
| II.6. Résultats de l'enquête | 65 |
| II.6.1. Localisation des vétérinaires et taux de retour des questionnaires | 65 |
| II.6.2. Elevages avicoles (type et dominance)..... | 65 |
| II.6.3. Normes d'élevage | 66 |
| II.6.4. Motifs d'emploi des antibiotiques dans les élevages..... | 67 |
| II.6.5. Fréquence et modalités de prescription des antibiotiques | 67 |
| II.6.6. Administration des antibiotiques | 69 |

| | |
|--|---------------|
| II.6.7. Vente d'antibiotiques sans ordonnance | 70 |
| II.6.8. Échec d'antibiothérapie et recours à l'antibiogramme | 70 |
| II.6.9. Situations d'impasse thérapeutique | 71 |
| II.6.10. Durée de traitement | 71 |
| II.6.11. Temps d'attente | 72 |
| II.7. Discussion | 73 |
| II.7.1. Caractéristiques des élevages de poulet de chair des régions d'étude..... | 73 |
| II.7.2. Isolement et identification biochimique des <i>E.coli</i> | 74 |
| II.7.3. Discussion relative au sérotypage..... | 75 |
| II.7.4. Discussion relative à l'association des antibiotiques et l'échec de traitement | 75 |
| II.7.5. Lien entre l'utilisation des antibiotiques et l'apparition de la résistance | 75 |
| II.7.6. Discussion relative à la multirésistance | 78 |
| II.7.6.1. L'antibiothérapie du groupe | 78 |
| II.7.6.2. L'utilisation inapproprié d'antibiotiques | 79 |
| II.7.6.2.1. Utilisation systématique des antibiotiques pour des raisons préventives | 79 |
| II.7.6.2.2. Délivrance des antibiotiques sans ordonnance | 80 |
| II.7.6.2.3. Absence de la supervision de l'opération d'administration des antibiotiques..... | 81 |
| II.7.6.2.4. Non recours à l'antibiogramme après l'échec de traitement | 82 |
| II.7.6.2.5. Non-respect des conditions d'usage des antibiotiques par les éleveurs | 82 |
| Conclusion & perspectives | 84 |
| Références bibliographiques..... | 86 |
| Annexes | 94 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Classification taxonomique d' <i>Escherichia coli</i> | 2 |
| Figure 2 : Composition de l'enveloppe d' <i>E.coli</i> K-12 | 4 |
| Figure 3 : Structure de lipopolysaccharide chez les entérobactéries | 4 |
| Figure 4 : Caractéristiques générales des îles de pathogénicité. | 9 |
| Figure 5 : Comparaison des tailles de pan-génome et core-génome | 12 |
| Figure 6 : Représentation des différents groupes d' <i>E.coli</i> | 14 |
| Figure 7 : Prévalence de gènes chez trois pathotypes d'ExPEC | 18 |
| Figure 8 : Potentiel zoonotique des ExPEC | 19 |
| Figure 9 : Sélection des souches résistantes après utilisation des antibiotiques. | 25 |
| Figure 10 : Broth macrodilution..... | 27 |
| Figure 11 : Antimicrobial gradient method E-test | 28 |
| Figure 12 : Interprétation de la CMI | 29 |
| Figure 13 : Mécanismes de transfère génétique entre les bactéries. | 32 |
| Figure 14 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques. | 35 |
| Figure 15 : Sources et modes de transmission de la résistance aux antibiotiques | 38 |
| Figure 16 : Localisation des trois wilayas sources des prélèvements. | 41 |
| Figure 17 : Lésions de Colisepticémie dans une carcasse..... | 46 |
| Figure 18 : Etapes de l'identification d' <i>E.coli</i> | 51 |
| Figure 19 : Circuit d'approvisionnement en produits vétérinaires en Algérie. | 55 |
| Figure 20 : Aspect des colonies d' <i>E.coli</i> sur Hektoen et MacConkey. | 58 |
| Figure 21 : <i>E.coli</i> avec test ONPG négatif. | 58 |
| Figure 22: Test TSI | 59 |
| Figure 23 : Réaction d'agglutination O78..... | 61 |
| Figure 24 : Résistance aux antibiotiques dans les antibiogrammes réalisés. | 62 |
| Figure 25 : Pourcentage des bactéries multirésistantes chez les AFEC et APEC..... | 63 |
| Figure 26 : Elevages dominants dans les régions d'étude..... | 65 |
| Figure 27 : Normes d'élevage. | 66 |
| Figure 28 : Utilisation préventive d'antibiotiques..... | 67 |
| Figure 29 : Fréquence d'utilisation de différentes familles d'antibiotiques..... | 68 |
| Figure 30 : Modalités de prescription des antibiotiques. | 69 |
| Figure 31 : Supervision de l'opération d'administration des antibiotiques. | 69 |
| Figure 32 : Pratique de la vente d'antibiotiques sans ordonnance. | 70 |
| Figure 33 : Taux d'échec d'antibiothérapie. | 70 |
| Figure 34 : Rencontre des situations d'impasse thérapeutique. | 71 |
| Figure 35 : Respect de la durée de traitement. | 71 |
| Figure 36 : Respect de temps d'attente. | 72 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: Caractéristiques des éléments génétiques responsables de la dissémination des gènes de résistance | 10 |
| Tableau 2 : Caractéristiques biochimiques d' <i>Escherichia coli</i> | 13 |
| Tableau 3 : Définition et classification des différents <i>E.coli</i> pathogène chez l'homme et les animaux domestiques | 16 |
| Tableau 4 : Facteurs de virulences des ExPEC | 20 |
| Tableau 5 : Principales antibiotiques à usage vétérinaires | 22 |
| Tableau 6 : Résistance naturelle chez les différentes espèces bactériennes..... | 30 |
| Tableau 7: Distribution des élevages et abattoirs selon les régions. | 43 |
| Tableau 8: Nombre des prélèvements réalisés selon les régions. | 46 |
| Tableau 9 : Familles d'antibiotiques. | 49 |
| Tableau 10 : Nombre et pourcentage des AFEC et APEC isolés..... | 57 |
| Tableau 11 : Caractères biochimiques variables des souches d' <i>E.coli</i> isolés. | 60 |
| Tableau 12 : Taux de la résistance aux antibiotiques des différentes souches d' <i>E.coli</i> isolées des poulets de chair au nord-est d'Algérie. | 62 |
| Tableau 13 : Multirésistance chez les différents isolats. | 63 |
| Tableau 14 : Antibiotypes retrouvés chez les deux types de souches..... | 64 |

Liste des abréviations

AIEC : *E.coli* adhérent-invasif.

AMX : Amoxicilline.

AMP : Ampicilline.

APC : assemblée populaire communale.

AFEC : Avian fecal *E.coli*.

APEC : Avian pathogenic *E.coli*.

BCP : Bromo Crésol Pourpre.

C: Chloramphenicol.

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

CIP : Ciprofloxacine.

CLED : Cystine Lactose Electrolyt Deficient.

DAEC: *E.coli* à adhésion diffuse.

DEC : *E. coli* diarrhéiques.

DOX : Doxycycline.

DR: répétition directe.

DSA : direction des services agricoles.

E.coli : *Escherichia coli*.

EAEC: *E.coli* entéroagrégatif.

EHEC : *E.coli* entérohémorragique.

EIC : éléments intégratifs conjugatifs.

EIEC : *E.coli* entéro- invasive.

EnPEC : Endometrial pathogenic *E. coli*.

EPEC : *E.coli* entéropathogène.

ETEC: *E.coli* entérotoxinogène.

EUCAST : European Committee for Antibiotics Susceptibility Testing.

ExPEC : Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*.

GMN : Gentamycine.

ISCR : insertion sequence common region.

K : Kanamycine.

Kb, Kbase : Kilobase.

KDa : kilodalton.

MPEC: Mammary pathogenic *E. coli*.

NA : Acide Nalidixique.

NMEC: Neonatal meningitis *E.coli*.

OF: Ofloxacin.

ONPG : Ortho-Nitro-Phényl-Galactopyranoside.

PBP : pénicillin binding proteins.

SePEC: Sepsis-associated pathogenic *E. coli*.

STEAEAC : *E.coli* entéroagréatifs producteurs de Shiga-toxine.

SXT : Sulfamide-trémitoprime.

UPEC: Uropathogenic *E.coli*

Liste des annexes

| | |
|--|-----|
| Annexe 1 : Identification, sérotypage, antibiogramme des <i>E.coli</i> | 94 |
| Annexe 2 : Résultats d'antibiogramme | 99 |
| Annexe 3 : Questionnaire destiné aux vétérinaires | 100 |
| Annexe 4 : Synthèse des réponses des vétérinaires aux questionnaires..... | 103 |

Introduction

La résistance aux antibiotiques chez les animaux d'élevage a toujours été une préoccupation depuis des années. En effet, de plus qu'elle peut être la cause d'échecs thérapeutiques en médecine vétérinaire, elle peut également poser un problème de santé publique, celui de la capacité de transférer cette résistance aux humains. Ce transfert est facilité par l'absence de barrière entre les populations bactériennes humaines et animales et par l'existence d'une similitude entre la plupart des familles d'antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire (AFSSA, 2006).

En Algérie les élevages de poulet de chair constituent des milieux idéals au développement et la dissémination des germes résistants. Une utilisation massive d'antibiotiques est toujours constatée dans ces élevages, qui sont souvent envahis ou infectés par de nombreuses bactéries responsables de graves infections chez les oiseaux. La propagation des agents pathogènes dans ce type de production est facilitée par le non-respect des normes de construction des bâtiments d'élevages et le manque d'application des mesures sanitaires et hygiéniques.

Le phénomène de la résistance est développé suite à l'utilisation des antibiotiques en élevage. Cependant, les pratiques à risque en matière d'utilisation des antibiotiques provoquent plus de résistances que l'usage approprié. Ces pratiques sont directement incriminées dans l'augmentation des niveaux de résistance aux antibiotiques chez les différents agents pathogènes.

Parmi une multitude d'espèces bactériennes, nous avons choisi d'évaluer les niveaux de résistance d'*Escherichia coli* d'origine aviaire en vers dix antibiotiques. *E. coli* est considérée par la plupart des programmes de surveillance de la résistance aux antimicrobiens comme un bon indicateur de l'évolution de l'antibiorésistance (Martin et al, 2007, Giguère et al., 2013). C'est également le germe le plus couramment identifié aux laboratoires. *E. coli* représente 70 % des isolats chez les volailles, 50 % chez les bovins et le porc, 25 à 35 % chez les petits ruminants, le lapin et le chat (Chardon et Brugere, 2014).

La majorité des études se focalisent sur l'antibiorésistance chez les APEC. Dans notre travail nous voulons élargir l'étude sur des souches d'*E. coli* de type AFEC, isolées à partir de la flore digestive de poulet de chair. En réalité l'apparition de la résistance et les risques qui en découlent concernant toutes les populations d'*E. coli* ; commensales ou pathogènes et dans différentes localisations intestinales ou extra-intestinales.

Partie I

Étude bibliographique

I.1. Généralités sur *Escherichia coli*

I.1.1. Définition et classification

Escherichia coli nommé aussi "colibacille" découverte par le pédiatre allemand-autrichien Theodor Esherich à partir d'un échantillon de selles humaines en 1885. C'est un bacille d'environ 2-3 μm de long et 0,6 à 0,7 μm de diamètre, Gram négatif, non sporulée, souvent mobile, de la famille des Enterobacteriaceae, hôte commun du tube digestif des humains et des animaux (Nolan et al., 2013, Hufnagel et al., 2015).

Le genre d'*Escherichia* est composé de cinq espèces: *E. albetii*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulnérais*, avec *E.coli* comme espèce-type. Sur la base de ses antigènes de surface (O somatique, antigène flagellaire H et antigène capsulaire K), *E. coli* se différencie en plus de 190 sérogroupes (sérotypes) (Liu, 2015).

| | |
|---------|-------------------------|
| Domain | Bacteria |
| Phylum | Proteobacteria |
| Class | Gammaproteobacteria |
| Order | Enterobacteriales |
| Family | Enterobacteriaceae |
| Genus | <i>Escherichia</i> |
| Species | <i>Escherichia coli</i> |

Figure 1: Classification taxonomique d'*Escherichia coli* (d'après Faner et al., 2017).

Des études basées sur des techniques moléculaires ont permis de classer *E.coli* en 4 grands groupes phylogéniques, A, B1, B2 et D. cependant le séquençage permanent de grandes quantités de génomes d'*E.coli* a permis de décrire de nouveaux phylogroupes tel que C, E et F (Gonzalez-Alba et al., 2019).

I.1.2. Structure de la bactérie

E. coli possède tous les structures communes aux bactéries gram négatives.

I.1.2.1. Enveloppe bactérienne

L'*E.coli* est entourée d'une enveloppe de plusieurs couches qui lui confère sa forme, il lui permet aussi de résister aux variations des paramètres physiques tels qu'un choc mécanique, un traitement des antibiotiques ou une variation de température. Cette enveloppe est constituée de deux membranes interne et externe, entre ces deux membranes se trouve une région périplasmique qui renferme une fine couche de peptidoglycane, de nombreuses protéines (protéines de liaison, enzymes) et les oligosaccharides dérivés de la membrane (MDO). Contrairement à de nombreuses membranes biologiques, la membrane externe de la plupart des bactéries Gram négatif n'est pas une bicouche phospholipidique. Mais il s'agit d'une bicouche asymétrique qui contient des phospholipides dans la couche interne et des molécules de lipopolysaccharide (LPS) dans la couche externe. (Bertani et Ruiz, 2018).

Une classe de protéines membranaires particulières, les porines, organisent des canaux membranaires capables d'assurer la pénétration des nutriments. Ces systèmes de transport passif constituent une grande famille de protéines de la membrane externe : OmpF, OmpC, OmpD, PhoE, LamB, OmpA, OmpK36 et Omp36, décrites chez *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium* (Pagès et Garnotel, 2003).

La membrane interne (membrane cytoplasmique) des bactéries Gram négatif et les membranes des cellules eucaryotes ont une structure similaire, elles sont organisées en bicouche lipidiques contenant des protéines incorporées. La membrane cytoplasmique est le siège de fonctions cellulaires importantes, telles que le transport d'électrons, la sécrétion de protéines, le transport de nutriments et la biosynthèse des lipides (Coleman et Jeffrey Smith, 2007).

Les éléments constitutifs de l'enveloppe des *E.coli* sont représentés dans la figure ci-après :

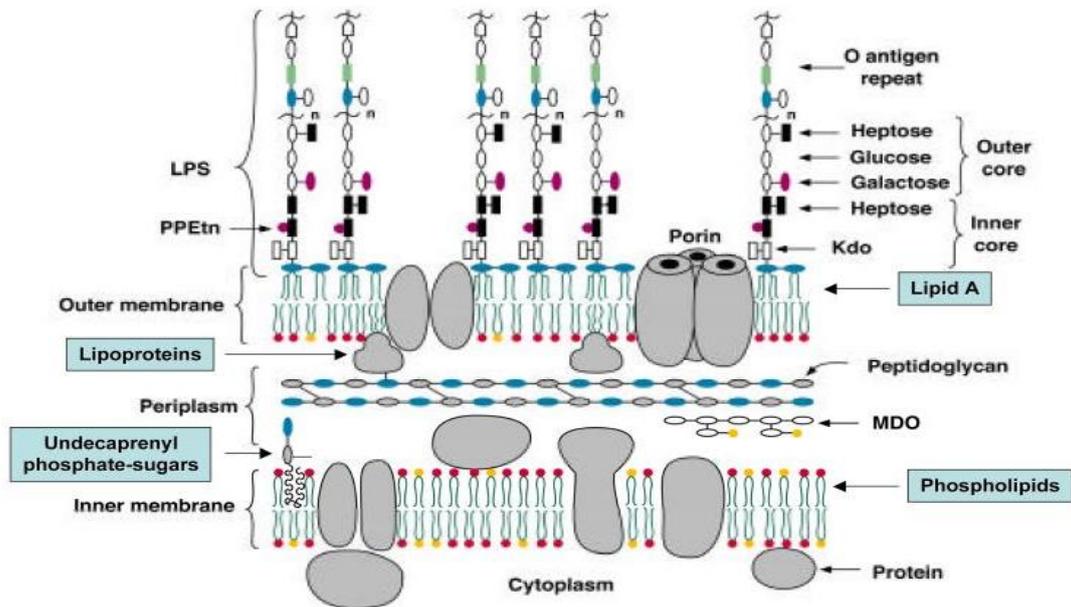


Figure 2 : Composition de l'enveloppe d' *E.coli* K-12 (d'après Raetz et al., 2002).

I.1.2.2. Lipopolysaccharides

La membrane externe contient des structures spécifiques aux bactéries gram négatif qui sont les lipopolysaccharides "LPS". La structure du LPS est assez complexe, formée de trois parties. Une partie hydrophobe attachée à la membrane externe, est connue sous le nom de lipide A ou endotoxine. Une partie hydrophile ou chaîne latérale O, de nature polysaccharidique s'étend dans le milieu extérieur, se compose généralement de 10 à 25 unités répétitives contenant de deux à sept sucres. Une partie centrale oligosaccharidique appelée core; que l'on peut diviser en deux région interne et externe. Les sucres dans le lipide A et dans le core sont garnis d'un nombre variable de groupes phosphate et de liaisons phosphodiester (Stenutz et al., 2006)

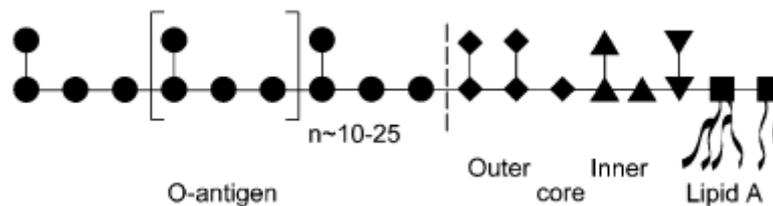


Figure 3 : Structure de lipopolysaccharide chez les entérobactéries (d'après Stenutz et al., 2006).

Le LPS remplit plusieurs fonctions chez les bactéries Gram négatif. En plus de sa fonction fondamentale en tant que composant structurel essentiel de l'enveloppe bactérienne, les molécules de LPS transforment la membrane externe en une barrière efficace qui protège la cellule de l'entrée de molécules toxiques telles que les sels biliaries et les antibiotiques, ce qui rend les bactéries Gram négatif naturellement résistantes à de nombreux antimicrobiens. Le LPS joue encore un rôle majeur dans la pathogénicité bactérienne. En effet cette molécule est toxique pour l'hôte par l'endotoxine A et antigénique grâce à l'antigène O. Ces antigènes O somatiques sont agglutinants en présence d'un immun-sérum spécifique permettant le sérotypage de la souche bactérienne. La synthèse de l'antigène O peut être arrêté en culture ; et les colonies du type S (smooth, lisse) deviennent de type R (rough, rugueux) n'exprimant plus cet antigène (Bertani et Ruiz, 2018).

I.1.2.3. Capsule

La membrane externe de certaines souches d'*E.coli* est recouverte d'une capsule polysaccharidique composée d'antigènes K. La capsule est particulièrement importante pour les bactéries pathogènes car elle les protège contre la phagocytose; essentiellement dirigée contre l'antigène O, et peut empêcher également la fixation de complément à la surface des cellules bactériennes. La capsule aide à prévenir la dessiccation des bactéries dans l'environnement et peut offrir encore une certaine protection contre les antibiotiques (Coleman et Jeffrey Smith, 2007).

L'antigène capsulaire K n'existe pas d'une façon permanente, sa présence masque les antigènes somatiques O et empêchent le sérotypage. Le chauffage à 100°C pendant une demi-heure démasque l'antigène O. Quelques souches nécessitent un chauffage de 2,5 heures à 121 °C pour éliminer certains antigènes K résistants à la chaleur. Sur la base de la stabilité à la chaleur, les antigènes K sont subdivisés en formes L, A et B. La plupart des antigènes K peuvent être identifiés par le test d'agglutination sur lame à l'aide de sérums spécifiques. Cependant, les antigènes K sont généralement non inclus dans le sérotypage. (Nolan et al., 2013).

I.1.2.4. Appendices périphériques

Trois types d'appendice peuvent être trouvés attachés à la membrane externe:

I.1.2.4.1. Flagelles

Constituées d'une protéine riche en N-méthyl-lysine de taille 55 kDa appelée la flagelline. Les flagelles sont utilisés par l'*E.coli* pour se déplacer en milieu liquide, leurs nombres varient entre 5 et 10 par cellule, chacune d'environ 5 à 10 µm de long et sont disposés de manière aléatoire autour de la surface cellulaire (flagellation péritriche). Les antigènes flagellaires sont appelés antigènes H, ils sont utilisés avec les antigènes O et K pour classer les bactéries en différents sérotypes (Liu, 2014).

I.1.2.4.2. Pili ou fimbriae

Sont plus petits et plus minces que les flagelles, formés d'une protéine polymérisée appelée piline, ces appendices ne sont pas impliqués dans le mouvement de la bactérie mais servent de structures d'adhérence. Le terme "pilus" (pluriel pili), devrait être réservé aux pili sexuelles; impliqués dans le transfert de matériel génétique, et le terme "fimbria" (pluriel fimbriae) est réservé au pili communs; qui sont des structures concernées par l'adhésion de bactéries à diverses surfaces, y compris les surfaces cellulaires (Antão et al., 2009).

- **Fimbriae**

Appendices fins comme des cheveux, ont des diamètres compris entre 2 et 7 nm, très nombreux que les flagelles, en nombre de 100 à 1 000 par cellule (Klemm, 1985). Les Fimbriae en tant que facteurs de virulence jouent un rôle important dans la pathogenèse permettant la colonisation de tissus. Les adhésines fimbriales, qui sont souvent situées à la pointe de la structure, reconnaissent généralement des récepteurs cibles spécifiques, permettant ainsi à la bactérie de cibler un tissu précis (tropisme tissulaire). En plus de la fonction d'adhérence les fimbriae contribuent encore à la formation des biofilms (Wurpel et al., 2013).

Certaines bactéries ont développé des mécanismes pour s'échapper de la phagocytose en désactivant la synthèse des fimbriae. La souche K12 d'*E.coli* arrête temporairement l'expression de leurs seuls fimbriae de type 1 et alterne entre un état fimbrié et non fimbrié, ce phénomène s'appelle variation de phase (Liu, 2014).

- **Pili**

Souvent plus épais et plus long que les fimbriae, présent avec une ou quelques copies par cellule. Ces pilis sont codés par des gènes présents sur des plasmides conjugatifs, et ils sont organisés en structure sous forme de tube, qui permet le passage de matériel génétique lors de la conjugaison. Ils ont également un rôle inhabituel de fournir des sites spécifiques pour certains bactériophages tels que MS2 (Smith-Keary, 1988).

I.1.2.5. Cytoplasme

À l'intérieur de l'enveloppe se trouve le cytoplasme, rempli de ribosomes libres, de molécules d'ARN de transfert, d'une grande variété d'enzymes et de nombreux produits métaboliques; Une région centrale compacte, le nucléoïde, dans laquelle se trouve l'ADN chromosomique est intégrée à cet environnement riche en ARN (Macvanin et Adhya, 2012).

Les réactions biochimiques nécessaires à la croissance d'*E.coli* se produisent principalement dans le cytoplasme. Ces réactions sont principalement des activités métaboliques (production d'énergie et des métabolites précurseurs), de biosynthèse et de construction, de polymérisation en macromolécules et d'assemblage des structures cellulaires. Dans l'*E.coli* à croissance rapide, une grande partie de l'espace cytoplasmique est occupée par des ribosomes. Le nombre de ribosomes par cellule est proportionnel au taux de croissance, allant d'environ 2000 dans les cellules en croissance à 37 ° C (Liu, 2014).

I.1.2.6. Nucléoïde

Contrairement au matériel génétique des eucaryotes présent dans un noyau, le génome d'*E.coli* se trouve dans une région irrégulière appelée nucléoïde, nommé aussi le corps nucléaire ou le corps de chromatine (Prescott et al., 2010). Ce dernier comporte une seule molécule d'ADN circulaire et double brin "le chromosome " ayant une longueur varie entre 4,6 et 5,5 Mb, plusieurs ARN et plus de 200 protéines de liaison à l'ADN (Dobrindt 2005, Macvanin and Adhya, 2012).

L'ADN est compacté environ 1000 fois dans le nucléoïde par les protéines nucléoïdiques et le surenroulement de l'ADN. Cette forte compaction est nécessaire pour que le chromosome bactérien s'adapte au volume étroit de la cellule (Postow et al., 2004, Macvanin et Adhya, 2012).

Le surenroulement de l'ADN chromosomique est maintenu par des enzymes topoisomérasés, telles que la topoisomérase II ou l'ADN gyrase, qui est impliquée dans la réplication, la transcription et la réparation de l'ADN bactérien, et la topoisomérase IV, qui est nécessaire pour séparer les chromosomes filles après la réplication. L'ADN gyrase et la topoisomérase IV bactériennes, sont des cibles pour les antibiotiques quinolones. Exemple, l'acide nalidixique et les fluorquinolones se lient à la sous-unité gyrase alpha et la novobiocine à la sous-unité gyrase bêta ce qui inhibe l'activité enzymatique de l'ADN gyrase (Coleman et Jeffrey Smith, 2007).

Le chromosome bactérien peut comporter des molécules d'ADN étranger :

- Les éléments transposables.
- L'ADN provenant du bactériophage.

Les éléments transposables sont des fragments d'ADN linéaires n'ont pas d'origine de réplication, ces séquences d'ADN peuvent se déplacer et s'insérer en différents sites de chromosome ou sur d'autres molécules d'ADN. Ce déplacement s'appelle la transposition. Les éléments transposables les plus simples sont les séquences d'insertions IS 750 à 1600 pb, les seules protéines qu'ils codent sont les transposases spécifiques. Ces dernières sont des enzymes nécessaires à la transposition ; elles permettent l'insertion des IS dans l'ADN cible. Les transposons se distinguent des séquences d'insertion par leur taille beaucoup plus grande, généralement entre 2,5 et 20 kb; ils codent également diverses caractéristiques importantes, telles que la résistance aux antibiotiques et la capacité de produire certaines toxines. La cellule bactérienne peut aussi renfermer de l'ADN phagique, et les bactéries qui les hébergent sont dites lysogènes. Dans ce cas le génome de phage se réplique passivement en même temps que le chromosome de l'hôte et sans endommager la bactérie (Prescott et al., 2010).

I.1.2.7. Plasmides

Les plasmides sont des fragments d'ADN circulaire bicaténaire à localisation extra-chromosomal, leur taille varie entre quelques kbases et plusieurs centaines de kbases (Mainil, 2003). Ils portent peu de gènes (<30) codants pour des fonctions non essentielles à la survie de la bactérie, mais ils peuvent conférer à leur hôte des avantages sélectifs dans certains milieux. Certains plasmides sont dits épisomes, ils s'intègrent dans le chromosome et sont répliqués avec ce dernier. D'autres plasmides, tels que F (facteur de fertilité) et R (facteur de résistance aux antibiotiques), sont des plasmides conjugatifs et sont auto-transmissibles non

seulement d'un *E.coli* à un autre, mais également entre plusieurs autres espèces de bactéries gram-négatives. La dissémination de la résistance antimicrobienne chez les bactéries à Gram négatif a été largement attribuée à l'échange d'ADN inter et intra-spécifique, le transfert horizontal de gènes de résistance localisés par un plasmide étant le mécanisme dominant à l'origine de l'acquisition de la résistance chez les agents pathogènes bactériens. Ils existent d'autres types de plasmides plus importants ; comme les plasmides responsables de la virulence (toxines, sidérophores...), des plasmides codant pour les bactériocines et des plasmides métaboliques. (Prescott et al., 2010).

I.1.2.8. Îles génomiques & îlots de pathogénicité

Les îles génomiques (*Genomic Islands*) sont des régions chromosomiques, qui ont été acquies par un transfert horizontal et qui sont présentes dans le génome de certaines souches d'une espèce et absente chez d'autres souches très proches. Elles portent des gènes qui codent pour des fonctions aussi diverses comme la pathogénicité, le métabolisme, la symbiose et la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds, ce qui peuvent augmenter l'adaptabilité et la polyvalence de la bactérie dans son environnement. Elles sont fréquemment associées aux gènes codant un ARN de transfert (ARNt) et sont encadrés de répétitions directes (DR). Elles contribuent également au caractère dynamique de génome des bactéries grâce à des gènes de mobilité codant pour des intégrases ou des transposases et des séquences d'insertions qui sont nécessaires pour l'intégration et l'excision chromosomiques (Dobrindt et al., 2004, Juhas et al., 2008).

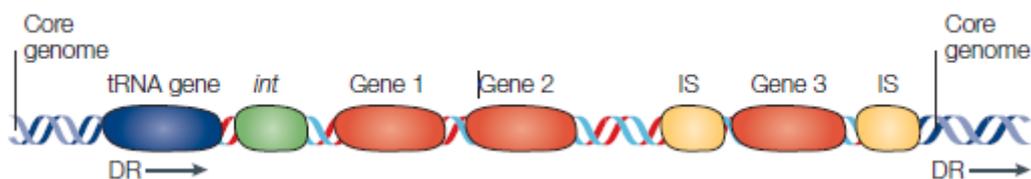


Figure 4 : Caractéristiques générales des îles de pathogénicité (D'après Dobrindt et al., 2004).

Les îles de pathogénicité (*Pathogenicity Islands, PAI*) sont une classe distincte d'îles génomiques, leur taille varie entre 10 et 200 kb. Elles se comportent comme des blocs indissociables de gènes acquis par transmission horizontale. Elles peuvent être transférées en une seule unité vers de nouvelles cellules bactériennes, conférant ainsi la virulence à des souches autrefois commensales. Ces éléments génétiques mobiles codent pour les facteurs

d'adhérence, les toxines, les systèmes d'absorption du fer, les facteurs d'invasion et les systèmes de sécrétion (Hallstrom et McCormick, 2015).

I.1.2.9. Intégrons

Les intégrons sont des éléments génétiques capables de capturer des gènes portés ensembles comme des cassettes de gènes et les incorporés dans un site spécifique au sein de l'intégron. Ils sont localisés souvent sur des éléments génétiques conjugatifs tels que les plasmides et les transposons (Muylaert et Mainil, 2012).

Les cassettes portes un ou deux gènes et un site de recombinaison, ces gènes peuvent être des gènes de résistance aux antibiotiques et plusieurs cassettes peuvent être intégrées dans un même intégron. Les intégrons sont donc essentiels dans la dissémination des gènes responsables de la résistance aux antibiotiques (Prescott et al., 2010).

Tableau 1: Caractéristiques des éléments génétiques responsables de la dissémination des gènes de résistance (d'après Muylaert et Mainil, 2012).

| Élément génétique | Caractéristiques | Rôles |
|------------------------------|--|--|
| Plasmide conjugatif | <ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Élément de réplication autonome - Présence des gènes nécessaires au transfert par conjugaison | <ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance |
| Plasmide mobilisable | <ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Élément de réplication autonome - Présence des gènes permettant d'utiliser l'appareil de conjugaison d'un plasmide conjugatif | Transfert de gènes de résistance |
| Transposon et ISCR | Capacité de déplacement depuis un segment d'ADN vers un autre à l'intérieur d'une bactérie | Transport de gènes de résistance du chromosome vers un plasmide et vice versa |
| Transposon conjugatif | <ul style="list-style-type: none"> - Élément intégré pouvant s'exciser pour former un intermédiaire de transfert non répliatif - Présence des gènes nécessaires au transfert par conjugaison | <ul style="list-style-type: none"> - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance |
| Cassette de gène | <ul style="list-style-type: none"> - Circulaire - Segment d'ADN non répliatif - Présence seulement d'une fenêtre de lecture ouverte - Intégration dans les intégrons | Porte des gènes de résistance |

| | | |
|--|--|--|
| Intégron | - Segment d'ADN intégré - Présence d'une intégrase, d'un promoteur, et d'un site d'intégration pour la cassette de gène | Groupe de gènes de résistance dont l'expression est sous le contrôle du promoteur de l'intégron |
| Ilot génomique et EIC | - Segment d'ADN chromosomique - Présence des gènes nécessaires aux déplacements et au transfert par conjugaison | - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance |
| Bactériophage | - Virus de bactérie - Circulaire ou non - Élément de réplication autonome | - Transfert de gènes de résistance - Mobilisation d'autres éléments portant des gènes de résistance |
| Fragment d'ADN isolé dans le milieu | Transféré par transformation d'une bactérie compétente | Porte des gènes de résistance |

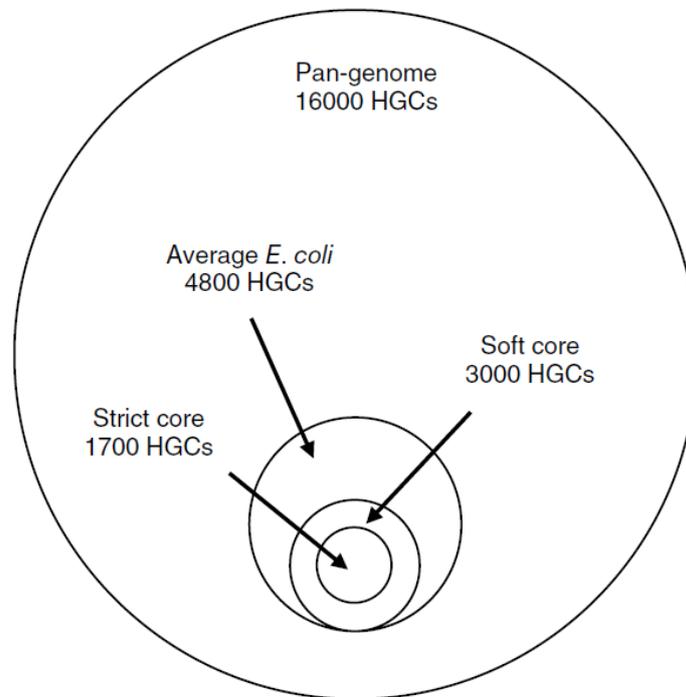
I.1.2.10. Organisation du génome d'*E.coli*

Le génome bactérien est une molécule dynamique exposée à des variations par la perte ou l'acquisition de matériel génétique. Le génome d'*E.coli* peut être considéré comme étant composé d'un noyau ou core génome qui regroupe un ensemble de gènes construisant la base des informations génétiques nécessaires aux fonctions cellulaires essentiels et d'un pool génétique flexible qui n'est pas commun à toutes les souches (Grasselli et al., 2008).

Une étude basée sur une analyse de 186 séquence du génome d'*E.coli* a révélée que le génome typique d'*E.coli* contient environ 4800 groupes de gènes, seulement 1700 groupes de gènes environ sont partagés par 100% des souche d' *E.coli*. et 3000 groupes de gènes présents chez au moins 95% des souches. Au total, plus de 16 000 groupe de gènes composent le pangénome d' *E.coli* (Balikó et al., 2018, Kaas et al., 2018).

Les différences de taille du génome d'*E.coli* reflètent la variation de taille du pool génétique flexible et la plupart des souches pathogènes possèdent des génomes de plus grande taille par rapport à ceux des souches commensales (Mainil, 2003 et Ge et al., 2014). Ce pool flexible est un ensemble d'informations génétiques spécifiques à la souche qui peuvent fournir des propriétés supplémentaires permettant à ces souches de s'adapter à des conditions environnementales particulières. Une grande proportion du pool génétique flexible est constituée d'ORF (*Open Reading Frame*) sans fonction évidente et d'un groupe d'éléments génétiques accessoires tels que les plasmides, les transposons, les séquences d'insertions, les

prophages et les îlots génomiques (GEI). Ils peuvent être intégrés dans le chromosome ou se répliquer indépendamment en tant qu'éléments extrachromosomiques (Grasselli et al., 2008).



HGCs : homolog gene clusters

Figure 5 : Comparaison des tailles de pan-génome et core-génome (d'après Balikó et al., 2018).

I.1.3. Caractères cultureux et biochimiques d'*E. coli*

Escherichia coli pousse en aérobie ou en anaérobie sur des milieux nutritifs ordinaires à des températures de 18 °C à 44 °C. Les colonies sont petites, convexes, lisses et incolores en gélose nutritive. Elles sont rose vif sur la gélose MacConkey, et noir vert foncé sur la gélose à l'éosine-bleu de méthylène (EMB). Les colonies rugueuses sont plus grandes à contours irréguliers. Les colonies mucoïdes sont volumineuses, semblent humides et collantes lorsqu'elles sont manipulées (Nolan et al., 2013).

En dehors des souches immobiles et agazogènes anciennement décrites comme *Alkalescens dispar*, l'identification d'*E. coli* ne pose pas un problème. *E. coli* peut fermenter le lactose grâce à l'activité de la β - galactosidase (ONPG positive). Elle produit de l'indole à partir de l'acide aminé tryptophane par action de l'enzyme tryptophanase. *E. coli* est incapable

d'hydrolyser l'urée et ne produise pas de la gélatinase. La production de sulfure d'hydrogène est généralement absente. *E.coli* ne pousse pas sur la gélose au citrate de Simmons, qui contient du citrate comme seule source de carbone. Les tests inositol, arginine dihydrolase (ADH), tryptophane désaminase (TDA) et Voges-Proskauer (VP) sont également négatifs (Percival et Williams, 2014).

Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Caractéristiques biochimiques d'*Escherichia coli* (d'après Denis et al., 2011).

| Caractéristiques | Réaction |
|---|----------------|
| Mobilité | + ¹ |
| Indole | + |
| H ₂ S hajna | - ² |
| Citrate simmons | - |
| Urée | - |
| Ortho-Nitro-Phényl-Galactopyranoside (ONPG) | + ¹ |
| Lysine décarboxylase (LDC) | d |
| Ornithine décarboxylase (ODC) | d |
| Arginine dihydrolase (ADH) | - |
| Tryptophane désaminase (TDA) | - |
| Voges-Proskauer (VP) | - |
| Lactose | - ¹ |
| L-arabinose | d |

d : différents selon les souches.

¹ sauf *E.coli* biovar alkalescens dispar.

² sauf plasmide métabolique.

I.2. Différents groupes d'*Escherichia coli*

L'espèce comprend deux grands groupes: *E.coli* pathogène et commensale. La figure ci-après représente les différents groupes et sous groupes d'*E.coli*.

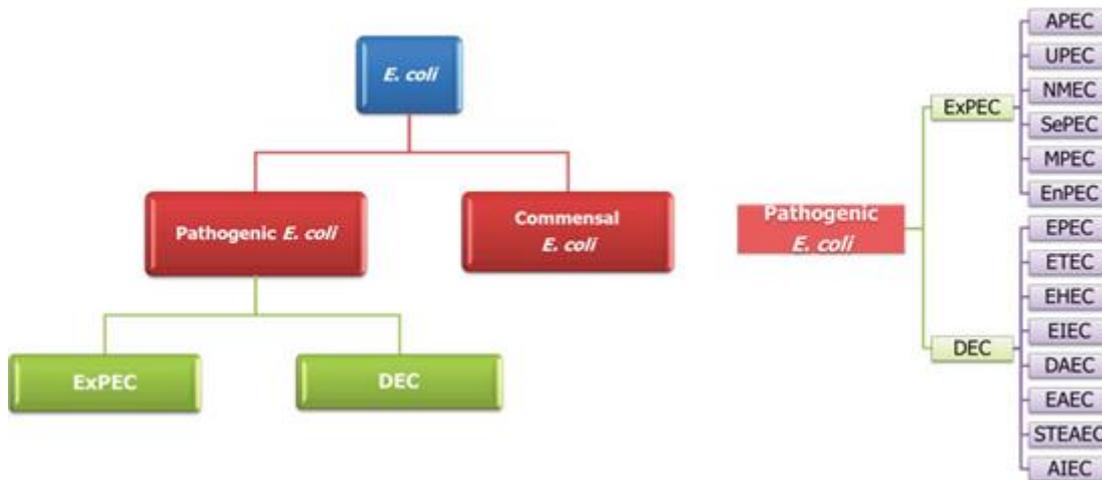


Figure 6 : Représentation des différents groupes d'*E.coli* (d'après Kunert Filho et al., 2015).

I.2.1. Souches commensales

La grande majorité des souches d'*E.coli* sont des commensales ou non-pathogènes. Ces bactéries se logent principalement dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du caecum et du côlon. Les souches commensales participent dans des mécanismes de digestion et de la biosynthèse de certaines vitamines (vitamine K, vitamine B12, acide folique, ...). Elles possèdent également un rôle de défense contre les agents pathogènes entériques, en s'opposant avec compétition à la colonisation de tube digestif par des agents pathogènes nocifs (Mainil, 2003 , Tenaillon et al., 2010 et Kunert Filho et al., 2015).

Les *E.coli* entériques commensales peuvent être le réservoir naturel de souches pathogènes, Plusieurs études ont montré que des souches d'*E.coli* commensales sont devenues pathogènes par acquisition des gènes de virulence d'origine chromosomique ou extra-chromosomique. Une souche commensale utile peut devenir alors un pathogène nuisible (Duriez et al., 2001).

Le microbiote commensal intestinal semble également un rôle important dans l'émergence de la résistance aux antibiotiques. La densité élevée de bactéries commensales dans l'intestin favorise l'émergence au sein de cette population des souches potentiellement résistantes après la prise d'antibiotiques (Tenaillon et al., 2010).

I.2.2. Souches pathogènes

Il existe de nombreux groupes pathogènes d'*E.coli* responsables de maladies chez l'homme et les animaux, y compris les *E. coli* responsables de diarrhées (DEC); qui sont des souches à tropisme intestinal et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) qui sont associées à des maladies en dehors du tractus gastro-intestinal. Chacune de ces groupes contient différents sous-groupes provoquant différentes infections (Kunert Filho et al., 2015).

La diversité des pathotypes d'*E.coli* est due à l'acquisition des divers de gènes associés à la virulence. Ces gènes de virulence sont généralement transférés horizontalement et appartient au génome flexible de *E.coli*, tel que îlots de pathogénicité, bactériophages, plasmides et transposons (Hejnova et al., 2005).

Tableau 3 : Définition et classification des différents *E.coli* pathogène chez l'homme et les animaux domestiques (d'après Mainil, 2003).

| Classe | Nom | Acronyme Anglophone | Définition | Espèces cibles |
|---|--|---------------------|---|---|
| Diarrhéogènes : Entérites Entérocolites | Entéro-invasifs | EIEC | Envahissement des entérocytes | Homme, primates |
| | Entérotoxigènes | ETEC | Production d'entérotoxines avec accumulation de fluide dans l'intestin, de fimbriae F2 à F6, F41 | Ruminants, porc, homme (chiens) |
| | Entéropathogènes | EPEC | Production de la lésion d'attachement et d'effacement (A/E) | Animaux, homme |
| | Vérottoxigènes | VTEC (STEC) | Production de toxines actives sur cellules Véro en culture | Ruminants ? Homme ? |
| | Entérohémorragiques | EAEC | Responsables d'une entérocolite souvent hémorragique, production de lésions A/E et de toxines Véro | Homme, ruminants |
| | Entéroadhérents | | Adhésion agrégative sur cellules en culture : adhésines AAF/I | Homme |
| | « Diffuse adherent » | DAEC | Adhésion diffuse sur cellules en culture : adhésines AIDA-I ou Afa | Homme (animaux ?) |
| | Nécrotoxigènes | NTEC | Production de facteurs cytotoxiques nécrosants 1 (CNF1), facteurs cytotoxiques nécrosants 2 (CNF2), fimbriae P, S et/ou F17, adhésines Afa, hémolysine (entérotoxines, aérobactine, résistance au complément) | Animaux et homme (NTEC1), ruminants (NTEC2) |
| Entérotoxémiques : Maladie de l'œdème | Vérottoxigènes | VTEC (STEC) | Production de toxines actives sur cellules Véro en culture | Porcelet |
| Uropathogènes (UPEC) : | Nécrotoxigènes | NTEC | Production de CNF1 ou CNF2, de toxines Cytoléthales Distendantes (CDT), fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, hémolysine α (aérobactine, résistance au complément) | Homme, chiens, chats |
| Cystites Pyélonéphrites | Autres | ? | Production de fimbriae P et/ou S, adhésine Afa, hémolysine α (aérobactine, résistance au complément) | Homme, animaux |
| Mammopathogènes : Mammites | | ? | Pas de facteurs spécifiques de virulence : origine fécale | Animaux, Surtout ruminants |
| Invasives : Septicémie Bactériémie Infections systémiques | Nécrotoxigènes | NTEC | Production de CNF1, CNF2 et /ou CDT, aérobactine, résistance au complément, fimbriae P, S et/ou F17, et/ou adhésines Afa, hémolysine α | Animaux, homme |
| | « Neonatal Meningitis <i>E. coli</i> » | NMEC | Production d'aérobactine, résistance au complément, fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, antigène capsulaire K1 (hémolysine α). | Homme |
| | « Avian Pathogenic <i>E. coli</i> » | APEC | | Oiseaux |
| | Autres | ? | Production d'aérobactine, résistance au complément (hémolysine α) | Animaux, homme |

I.2.2.1. *E. coli* diarrhéiques

Parmi un large éventail d'agents microbiens, notamment des virus, des bactéries et des parasites, les *DEC* est l'une des causes les plus courantes de diarrhée. Ce groupe de pathogènes est subdivisé en huit pathovars majeurs selon leurs facteurs de virulence et le type de maladie engendrée, à savoir *E.coli* entéropathogène (*EPEC*), *E.coli* entérohémorragique (*EHEC*), *E.coli* entérotoxigène (*ETEC*), *E.coli* entéroagrégatif (*EAEC*), *E.coli* entéro-invasif (*EIEC*), *E.coli* à adhésion diffuse (*DAEC*), *E.coli* entéroagrégatifs producteurs de Shiga-toxine (*STEAEC*) et *E.coli* adhérent-invasif (*AIEC*) (Kunert Filho et al., 2015).

I.2.2.2. *E.coli* extra-intestinal

Le microbiote intestinal est un puissant réservoir des ExPEC. Ces souches résident comme commensaux inoffensifs dans l'intestin des sujets sains, cependant elles peuvent provoquer une infection chez les sujets fragilisés, au cas où elles atteignent un site extra-intestinal, comme les voies urinaires chez les humains ou les voies respiratoires chez les volailles. 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*), Sepsis-associated pathogenic *E. coli* (*SePEC*), Mammary pathogenic *E. coli* (*MPEC*), Endometrial pathogenic *E. coli* (*EnPEC*) ainsi que le pathovar aviaire, Avian Pathogenic *E. coli* (*APEC*) (Kunert Filho et al., 2015).

Bien qu'il existe plusieurs sous groupes des ExPEC je développerai plus en profondeur les APEC qui plus nous intéressent dans ce travail.

I.2.2.3. Avian pathogenic *E.coli* (APEC)

Les APEC sont responsables des infections extra-intestinales chez le poulet, la dinde, le canard et d'autres espèces aviaires, provoquant un ensemble d'infections localisées et systémiques connues sous le nom de colibacillose (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999, Guabiraba et Schouler, 2015 et Nolan et al., 2015).

Les infections associées aux APEC sont très variables : omphalites et infection de sac vitelline, maladie respiratoire chronique, colisepticémie, salpingite, péritonite, dermatite nécrotique, affection chronique de la peau « swollen-head disease » et granulomes " Hjarres's disease " (Stordeur et Mainil, 2002, Kunert Filho et al., 2015 et Nolan et al., 2015).

Les principaux sérogroupes impliqués dans les APEC sont O1, O2 et O78 et leur prévalence varie suivant les régions et les pays (Paixão et al., 2016). Plusieurs souches d'APEC montrent une similitude avec des souches ExPEC humaines en terme phylogénétique, de serogroupe et de gènes de virulence. Des études génomiques ont prouvé que les souches APEC sont très proches à l'UPEC et au NMEC (Cunha et al., 2017).

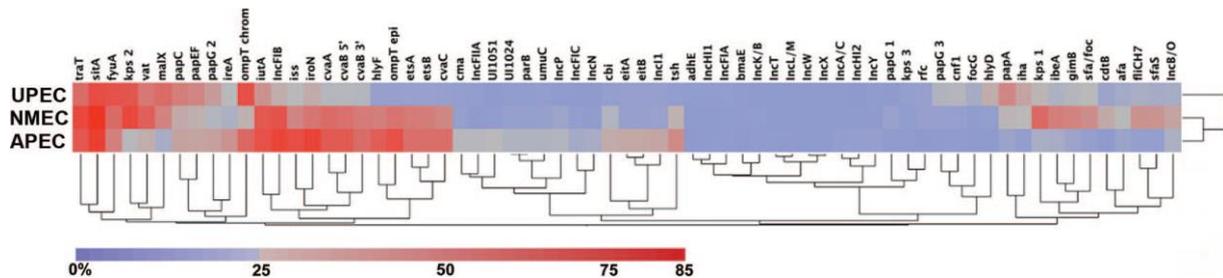


Figure 7 : Prévalence de gènes chez trois pathotypes d'ExPEC (d'après Johnson et al., 2008).

I.2.2.3.1. Risque zoonotique des APEC

La similitude génétique entre les APEC isolées principalement de poulets et d'UPEC qui provoquent des infections urinaires chez l'homme peut indiquer que la viande, en particulier de poulet, peut être un réservoir pour les souches ExPEC provoquant des infections urinaires chez l'homme (Sarowska et al., 2019).

Le risque zoonotique d'ExPEC semble être principalement lié à leurs grands plasmides conjugatifs. Des preuves de plus en plus nombreuses montrent que les plasmides APEC pourraient être une source de gènes de virulence pour d'autres souches ExPEC. Par exemple les plasmides ColV des APEC et NMEC partagent des gènes de virulence en commun pour ces deux espèces d'*E. coli* (Mellata, 2013). Cependant, selon des études inter-espèces, toutes les souches ExPEC ont un potentiel zoonotique, l'APEC a provoqué des maladies chez le rat et les souches ExPEC humaines étaient virulentes pour les poussins (LeStrange, 2017).

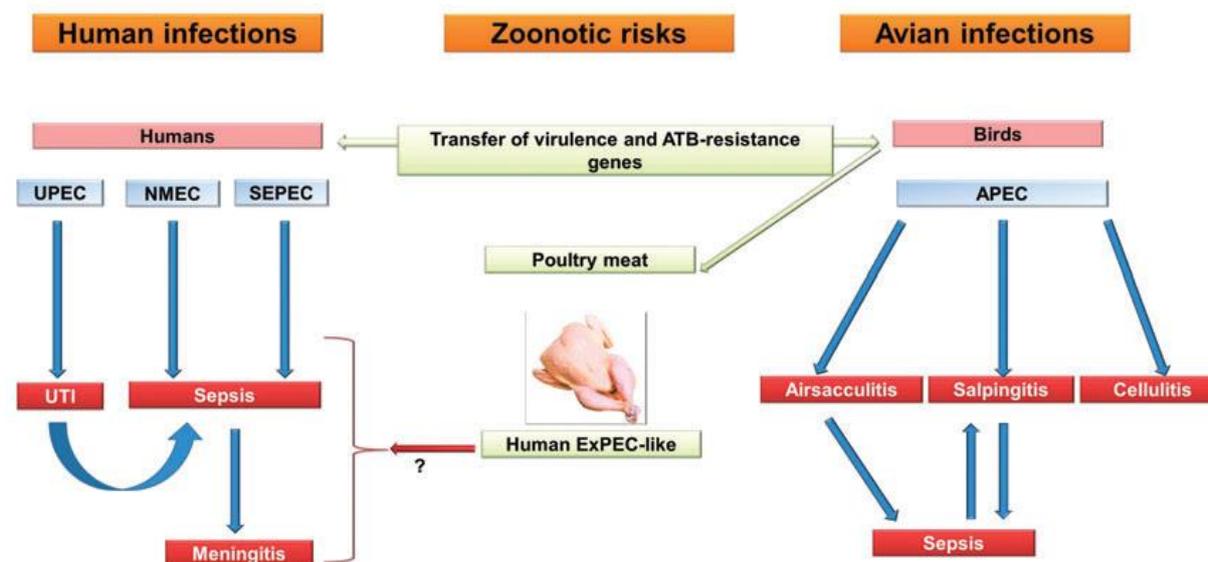


Figure 8 : Potentiel zoonotique des ExPEC (d'après Mellata, 2013).

I.2.2.3.2. Facteurs de virulence

Les APEC, comme d'autres *E.coli* pathogènes, a acquis des gènes par transfert horizontal qui codent pour des facteurs de virulence, Ces gènes de virulence peuvent être regroupés en îlots de pathogénicité chromosomiques ou plasmidiques (Nolan et al., 2013).

Il n'existe pas un facteur de virulence unique permettant de distinguer une souche APEC d'une souche commensale; cependant, l'assemblage d'un nombre important de gènes qui codent pour des propriétés de virulence augmente les chances que la souche soit virulente (Nolan et al., 2015).

Selon certains auteurs les souches avec un minimum de Cinq facteurs de virulence devraient être classées comme pathogènes APEC, tandis que ceux avec moins de Cinq sont des souches commensales. En revanche un autre résultat a montré que seuls Cinq gènes (*iutA*, *iss*, *ompT*, *iroN* et *hlyF*) étaient plus associés à la pathogénèse et pouvaient être utilisés pour différencier les pathogènes APEC des souches commensales d'*E.coli* (Robineau et Moalic, 2010, De Carli et al., 2015, et Guabiraba et Schouler, 2015). Un test de létalité embryonnaire peut être utilisé encore pour différencier les APEC des souches commensales, au contraire les toxines thermostables, l'activité métabolique, la motilité, les plasmides R et la

résistance aux phages ne sont généralement pas en corrélation avec la virulence (Nolan et al., 2015).

Tableau 4 : Facteurs de virulences des ExPEC (d'après Köhler et Dobrindt, 2013).

| Functional category | Virulence factor |
|---------------------|---|
| Adhesin | Type 1 fimbriae (Fim) P fimbriae (Pap/Prf) S/F1C fimbriae (Sfa/Foc) N-acetyl d-glucosamine-specific fimbriae (Gaf) M-agglutinin (Bma) Bifunctional enterobactin receptor/adhesin (Iha) Afimbrial adhesin (Afa) Temperature sensitive hemagglutinin (Tsh) |
| Invasin | Invasion of brain endothelium (IbeA) |
| Iron acquisition | Siderophore receptor IreA Aerobactin (Iuc) Yersiniabactin (Ybt) Salmochelins (Iro) Periplasmic iron binding protein (SitA) |
| Toxins | alpha-Hemolysin (HlyA) Cytotoxic necrotizing factor IV (CDF 1) Cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF-1) Putative hemolysin (HlyF) Colibactin (Clb) Serine protease autotransporters Sat, Pic |
| Protectins | Group II capsule incl. K1 capsule Conjugal transfer surface exclusion protein (TraT) Outer membrane protease T (OmpT) Increased serum survival (Iss) Colicin V (Cva) |
| Others | d-Serine deaminase (DsdA) Maltose and glucose-specific PTS transporter subunit IICB (MalX) Flagella |

I.2.2.3.3. Colisepticémie chez le poulet de chair

La Colisepticémie chez les poulets de chair entraîne une morbidité et une mortalité élevées. C'est la forme de colibacillose la plus répandue, elle survient chez les oiseaux stressés et immunodéprimés après une atteinte virale ou mycoplasmique ou après une dégradation dans les conditions d'ambiances des poulaillers comme l'exposition des poulets à des taux

élevés de poussière et d'ammoniac. Ces facteurs favorisent la colonisation des voies respiratoires supérieures et inférieures par des souches APEC présentes dans l'environnement, Des adhésifs fimbrials sont nécessaires pour l'adhérence ou l'attachement des bactéries à la trachée et aux poumons. Cette adhésion permet, en effet, à la bactérie de se multiplier sur place, provoquant ainsi une infection respiratoire (Guabiraba et Schouler, 2015).

L'hémolysine et la cytotoxine nécrosante (CNF) ; ces deux types de toxines pouvant être impliquées dans le franchissement de la barrière épithéliale par les colibacilles. Lorsque les *E.coli* traversent la muqueuse elles passent dans le sang, la résistance à l'activité bactéricide du complément liée au gène *iss* (increased survival in serum) est nécessaire à la survie des bactéries dans ce compartiment, Le passage dans la circulation sanguine est une étape importante pour la dissémination des bactéries, permettant une multiplication supplémentaire dans le sang et une colonisation des organes internes (foie, cœur, rate.....etc), Dans ce contexte, les systèmes de captation du fer sont utiles à la croissance bactérienne dans les fluides biologiques de l'hôte dans lesquels le fer est à de faibles concentrations. (Robineau et Moalic, 2010, et Guabiraba et Schouler, 2015).

L'inflammation des différents tissus engendre une augmentation de la perméabilité vasculaire, et se traduit par l'infiltration d'un liquide riche en protéines en dehors du compartiment sanguin et l'apparition des œdèmes dans les membranes séreuses. Le liquide commence à s'accumuler dans les cavités corporelles et attire en premier temps les hétérophiles. Après quelques heures les macrophages remplacent les hétérophiles et deviennent majoritaires, le fibrinogène plasmatique est converti en fibrine par la thrombine lorsqu'il est à l'extérieur des vaisseaux sanguins. L'exsudat continue de s'accumuler et finit par subir une caséation pour former des lésions semblable à du fromage (Nolan et al., 2015).

Les organes les plus touchés sont : les sacs aériens (aérosacculite), avec formation des masses fibrineuses ressemblent à des omelettes, le foie avec une périhépatite résulte de l'inflammation du péritoine couvrant l'organe et le péricarde qui devient caséux et prend une couleur jaune à blanchâtre (Stordeur et Mainil, 2002).

I.3. Utilisation des antibiotiques & résistance bactérienne

I.3.1. Antibiothérapies des infections dues à *Escherichia coli* aviaire

Le traitement de la colibacillose aviaire repose essentiellement sur l'antibiothérapie en absence d'autres traitements alternatifs. En Algérie, l'utilisation des vaccins est inexistante, et l'emploi de solutions curatives et préventives à base de plantes s'avère peu convaincant. Les molécules d'antibiotiques utilisées appartiennent aux mêmes familles que celles utilisées en médecine humaine et ils sont surtout administrés par voie orale. Ce traitement curative est appliqué sur des animaux cliniquement malades pour les guérir et d'éviter leur mort, ceci vise également à restaurer leur production (faye, 2005, Sanders, 2005, Chardon et Brugere, 2014). Le tableau ci-dessous rappelle les principales familles d'antibiotiques à usage vétérinaire et leurs modes d'action.

Tableau 5 : Principales antibiotiques à usage vétérinaires (d'après Chardon et Brugere, 2014).

| Principales familles d'antibiotiques à usage vétérinaires | Sous familles d'antibiotiques | Modes d'action | Exemples de principes actifs à usage vétérinaire |
|---|---------------------------------|--|--|
| Béta-lactamines | Pénicillines céphalosporines | Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, en particulier de la synthèse du peptidoglycane, ce qui modifie la rigidité de la structure et la forme de la bactérie. L'enveloppe externe est alors fortement fragilisée. La bactérie devient très sensible aux stress extérieurs (pression osmotique, température, stress mécanique) provoquant la lyse cellulaire. | Pénicillines G, M et A Céphalosporines (1 ^{re} , 2 ^e , 3 ^e , 4 ^e générations) |
| Polymyxines | / | Perturbation de la structure de la membrane plasmique, en s'insérant parmi les phospholipides externes, ce qui désorganise son intégrité. La perméabilité n'est alors plus assurée. Des métabolites et ions fuient en dehors de la cellule, provoquant la mort de la bactérie. | Colistine Polymyxine B |

| | | | |
|-------------------------|---|--|---|
| Aminosides | / | Inhibition de la synthèse protéique en agissant sur les ribosomes et donc en bloquant leur action de synthèse des protéines. Cela empêche la formation de nouvelles protéines, donc la multiplication des bactéries voire, pour les aminosides, engendre leur destruction en provoquant la synthèse de protéines aberrantes. | Gentamicine Apramycine |
| Macrolides & apparentés | Macrolides Lincosamides Pleuromutilines | | Erythromycine Spiramycine Clindamycine Tiamuline |
| Cyclines | / | | Chlortétracyclines Doxycycline |
| Phénicolés | / | | Florfénicol Thiamphénicol |
| Quinolones | Quinolones Fluoroquinolones | Perturbation de la structure de l'ADN, en se fixant sur des enzymes majeures de régulation : la topoisomérase et l'ADN gyrase. | Fluméquine Enrofloxacin Marbofloxacin |
| Sulfamides | / | Inhibition compétitive de la synthèse des bases de l'ADN. Les sulfamides sont des analogues structurels de l'acide folique, intermédiaire de leur synthèse. Ce blocage conduit à un arrêt de croissance bactérienne. | Sulfadiazine Sulfadiméthoxine Sulfaméthoxazole + Triméthoprime |

I.3.2. Autres usages des antibiotiques dans les élevages avicoles

À côté de l'usage thérapeutique, les antibiotiques peuvent être utilisés selon d'autres modalités :

I.3.2.1. Traitement préventif (prophylactique)

Ce type de traitement est appliqué sur des oiseaux cliniquement sains, ne présentant aucun symptôme, mais exposés à certains facteurs de risque (transport, chute de température, mauvaises conditions d'hygiène.....). Le but de ce traitement est de prévenir l'expression de la maladie susceptible d'apparaître à très court terme. Les molécules d'antibiotiques utilisées en curatif sont les mêmes choisies en préventif, cependant les doses en prophylaxie étant inférieures (faye, 2005, Sanders, 2005, Chardon et Brugere, 2014).

I.3.2.2. Additif alimentaire

Les antibiotiques utilisés en tant additif sont administrés dans l'alimentation des volailles à de très faibles doses de 5 à 50 ppm. L'usage zootechnique des antibiotiques a pour but d'améliorer la croissance et les performances des animaux producteurs de viande. Les mécanismes des effets de ces promoteurs ou facteurs de croissance n'est pas connu avec certitude. Mais ce qui est certain que ces faibles doses d'antibiotique entraînant :

- 1- une meilleure assimilation des aliments par les animaux, donc utiliser moins d'aliment pour produire autant de viande
- 2- une augmentation de la vitesse de croissance et le gain de poids par les oiseaux.

Depuis 2006, L'union européenne interdit définitivement d'utiliser les antibiotiques comme des additifs dans les aliments pour animaux (Directive 96/22/CE modifiée par les Directives 2003/74/CE et 2008/97/CE), certaines molécules ont été déjà interdites en 1997 et en 1998, cette interdiction a pour objet de réduire l'émergence des bactéries résistantes. En revanche ; cet usage d'antibiotiques reste toujours autorisé en Amérique du Nord et du Sud et en Asie. (Guillot et Lafont, 1989, Corpet, 2000 et Chardon et Brugere, 2014).

I.3.3. Relation entre l'usage des antibiotiques et le développement de la résistance

De nombreux travaux ont démontré que l'utilisation abusive et inadéquate d'antibiotiques et en relation avec l'augmentation des taux de résistance dans les différentes populations bactériennes. En effet toute utilisation d'antibiotique peut engendrer une pression de sélection favorable au développement des bactéries résistantes (Sanders et al., 2011 et Doublet et al., 2012).

La pression de sélection s'exerce principalement sur la microflore digestive commensale telles que *E. coli* , qui se localise en très grand nombre dans la partie terminal de tube digestif. Les bactéries résistantes persistent et se multiplient avec risque de colonisation de l'intestin par des bactéries pathogènes ou opportunistes (Sanders, 2005).

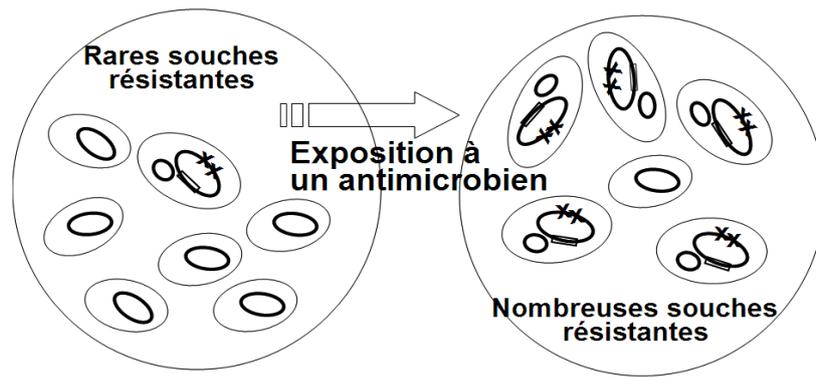


Figure 9 : Sélection des souches résistantes après utilisation des antibiotiques (d'après Carle, 2009).

Les bactéries développent de la résistance à la suite d'une exposition aux antibiotiques, ces derniers ayant été développés pour la première fois pour traiter les infections bactériennes humaines, mais l'essor considérable de l'usage d'antibiotiques pour les animaux et pour d'autres secteurs (incorporer dans les dentifrices, savons, les pastilles contre le mal de gorge, etc) a été suivi du développement croissant du phénomène d'antibiorésistance à l'échelle mondiale (Carle, 2009). Selon les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour l'année 2001, la moitié ou plus des antibiotiques produits à travers le monde le sont à des fins agricoles, principalement dans les élevages de porcs et de volailles. Les animaux dans les élevages industriels sont les plus exposés aux antibiotiques par rapport à ceux en plein air car ils sont élevés dans des bâtiments surpeuplés où la charge infectieuse est donc plus importante (Chardon et Brugere, 2014).

le développement d'une résistance à un antibiotique est également plus favorable dans les élevages industriels et plus particulièrement dans les élevages avicoles; les plus industrialisés dans notre pays, par ce que l'usage d'antibiotiques dans ce cas concerne un groupe d'animaux plutôt qu'à un seul animal, les oiseaux du lot seront de même âge, de même espèce et issus du même couvoir, ce qui exclue toute conduite individuelle (faye, 2005).

La relation entre l'utilisation des antibiotiques et l'apparition de la résistance reste une énigme. En effet l'utilisation de concentrations faibles ou très faibles d'antibiotique peut conduire à la sélection des générations bactériennes de haut niveau de résistance. Il peut favoriser également le transfère horizontal de la résistance et augmente même le taux de mutation, ce qui facilite l'émergence des souches hypermutables (Reygaert, 2018).

I.3.4. Définition et mesure de l'antibiorésistance

I.3.4.1 Définition

Une bactérie est considérée résistante lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est devenue supérieure que celle qui inhibe la quasi-totalité des souches de même espèce (Carle, 2009, Sanders et al., 2011).

La CMI c'est la concentration la plus basse en antimicrobien capable inhiber toute croissance bactérienne visible après 18 à 24 heures de culture à 37°C (Sanders et al., 2011, Muylaert et Mainil, 2012).

La définition de la résistance aux antibiotiques peut varier selon les disciplines, par exemple pour un praticien de santé; la résistance réside dans l'inefficacité d'une antibiothérapie envisagée contre une infection bactérienne.

I.3.4.2. Mesure

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est déterminée principalement par deux techniques :

I.3.4.2.1. Méthode par dilution

Consiste à mesurer la concentration minimale inhibitrice d'une souche bactérienne en inoculant des milieux liquides ou des géloses contenant des concentrations croissantes en antibiotiques (. . . 0.12 µg/ml, 0.25 µg/ml, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml . . .), Une boîte de gélose ou un bouillon de contrôle sans antimicrobien doit toujours être compris. Une exception faite pour deux antibiotiques les sulfamides et le triméthoprime, où une réduction de 80% de la croissance par rapport au témoin constitue une inhibition (Sanders et al., 2011).

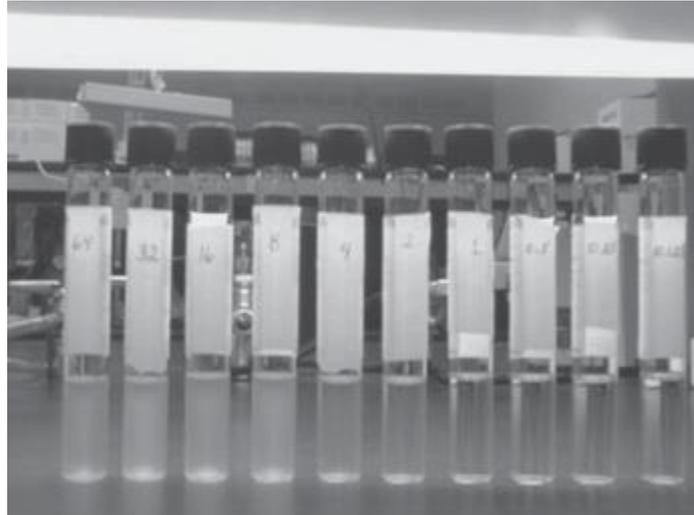


Figure 10 : Broth macrodilution (Rubin, 2013).

I.3.4.2.2. Méthode par diffusion

Il existe deux types de tests de diffusion :

- La diffusion selon la méthode de Kirby-Bauer ou la méthode des **disques de diffusion**, elle est couramment utilisée par les laboratoires pour la réalisation des antibiogrammes. Des disques de papier filtre imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés sur des boîtes de pétri contenant la gélose Mueller-Hinton de $4 \text{ mm} \pm 0.5$ mm d'épaisseur ; préalablement ensemencé avec une culture pure (opacité 0,5 Mc Farland) de la souche à étudier. Après incubation 16 à 20 h, une zone circulaire ou zone d'inhibition ; dépourvue de colonie peut être observé autour des disques d'antibiotiques, la CMI est déterminée en fonction du diamètre d'inhibition mesuré. (Rubin, 2013, CA-SFM 2017).

- **E-test**, ils s'effectuent de la même manière que les tests des disques, des bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique de faibles à hautes concentrations sont déposés sur la surface de la gélose Mueller-Hinton qui est déjà ensemencé avec la souche à étudier, les chiffres de concentrations d'antibiotiques imprimés en arrière de la bandelette correspondant aux valeurs de CMI. Après incubation, le sommet de la zone d'inhibition en forme d'ellipse indique la CMI de la souche bactérienne (Rubin, 2013).



Figure 11 : Antimicrobial gradient method E-test (Rubin, 2013).

L'interprétation des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques nécessite après la mesure de la CMI *in vitro*; la détermination des deux valeurs de concentration critique. Ces valeurs ou seuils de sensibilité sont obligatoire pour classer les souches bactériennes en « **résistantes** », « **sensibles** » ou « **intermédiaires** ».

les valeurs critiques sont en réalité proposés par des comités d'experts internationaux, en Europe, avec le CA-SFM (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) en France, le NWGA (Norwegian Working Group on Antibiotics] en Norvège, le SRGA (Swedish Reference Group of Antibiotics) en Suède, le BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy) au Royaume-Uni, le CRG (Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen) aux Pays-Bas et le DIN (Deutsches Institut für Normung) en Allemagne, soit par une instance européenne, l'EUCAST (European Committee for Antibiotics Susceptibility Testing). Aux États-Unis et dans de nombreuses régions en dehors de l'Europe, les méthodologies les plus utilisées sont celles du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Jehl et Schramm, 2013).

Ces comités ont établi une valeur critique inférieure « c » et une valeur critique supérieure « C » à partir de différentes données bactériologiques, pharmacologiques et même cliniques. (Muylaert et Mainil, 2012, Jehl et Schramm, 2013, Rubin, 2013, Cusack et al. , 2019). Après ces mesures, la CMI de la souche à étudier se compare aux deux concentrations critiques, Selon sa position sur l'échelle des CMI, la souche est classée sensible « S » à

l'antibiotique lorsque sa CMI est inférieure ou égale à c , résistante « R » si la CMI est supérieure à C et intermédiaire « I » si elle est comprise entre ces deux valeurs. (Gnanou et Sanders, 2000).

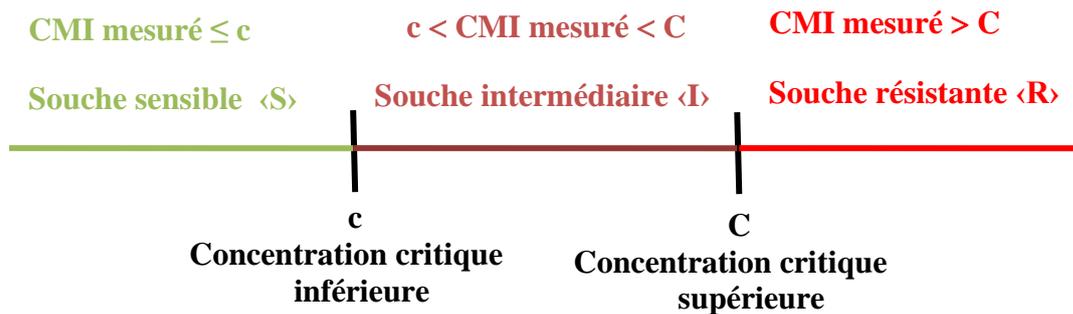


Figure 12 : Interprétation de la CMI

I.3.5. Origines et mécanismes de la résistance

La résistance aux antibiotiques peut être soit naturelle (intrinsèque) ou acquise

I.3.5.1. Résistance naturelle

Également connue sous le nom de la résistance primaire ou innée, elle se définit comme une insensibilité générale vis-à-vis d'une molécule spécifique d'antibiotique ou à une classe d'antibiotiques. Cette résistance concerne toutes les souches appartenant à la même espèce ou au même genre bactérien (Courvalin, 2008, Carle, 2009, Muylaert et Mainil, 2012).

La résistance naturelle est une résistance stable, d'origine génétique à transmission verticale, elle peut être due à :

- L'absence de la structure cible, par exemple l'absence de la paroi chez les mycoplasmes les rendant insensible aux antibiotiques qui agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne

comme les β -lactamines et les glycopeptides (vancomycine, Teicoplanine). (Courvalin, 2008, Carle, 2009, Muylaert et Mainil, 2012, Schwarz 2018).

Encore la résistance à la polymyxine chez les Gram-positives est due à un manque de phosphatidyléthanolamine dans leur membrane cytoplasmique (Boerlin et White, 2013).

- L'imperméabilité des membranes de certaines bactéries pour diverses classes d'antibiotiques. par exemple la résistance des bactéries Gram négatif aux glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines est due à l'incapacité de ces antibiotiques à franchir la membrane externe (Courvalin, 2008).
- L'inactivation enzymatique de l'antibiotique comme la production de AmpC β -lactamase chez certaines entérobactéries (Schwarz, 2018).
- L'expulsion de l'antibiotique par des systèmes d'efflux actifs ou pompes à efflux, ce mécanisme permet à la bactérie de rejeter l'antibiotique à l'extérieur. Par exemple le système AcrAB-TolC (Schwarz, 2018).

Le tableau suivant présente des exemples de la résistance naturelle chez certaines bactéries

Tableau 6 : Résistance naturelle chez les différentes espèces bactériennes (d'après Reygaert, 2018).

| Organismes | résistance naturelle |
|-------------------------------------|---|
| <i>Bactéroides</i> (anaérobies) | aminoglycosides, de nombreux β -lactames, quinolones |
| Tous les Gram positives | aztréonam |
| Entérocoques | aminoglycosides, céphalosporines, lincosamides |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | céphalosporines |
| Tous les Gram négatives | glycopeptides, lipopeptides |
| <i>Escherichia coli</i> | macrolides |
| <i>Klebsiella</i> spp. | ampicilline |
| <i>Serratia marcescens</i> | macrolides |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | sulfamides, ampicilline, céphalosporines de 1 ^{ère} et 2 ^{ème} génération, chloramphénicol, tétracycline. |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | aminoglycosides, β -lactames, carbapénèmes, quinolones |
| <i>Acinetobacter</i> spp. | ampicilline, glycopeptides |

I.3.5.2. Résistance acquise

Contrairement à la résistance naturelle, la résistance acquise est une propriété spécifique n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre, mais parfois elle concerne la plupart des souches (90 % des souches de staphylocoque sont résistants à la pénicilline). La résistance acquise peut être due à l'acquisition de gènes de résistance étrangers ou à la modification du génome bactérien par une mutation chromosomique. (Courvalin, 2008, Carle, 2009, Muylaert et Mainil, 2012, Schwarz 2018).

I.3.5.2.1. Mutations chromosomiques

C'est un phénomène spontané, qui se produit au hasard lors de la multiplication bactérienne. Ces mutations sont généralement ponctuelle; ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques partage le même mode d'action. Cependant, dans des conditions de stress (antibithérapie,...), les souches bactériennes peuvent subir des taux de mutation très élevés (**Hypermuation**). Cet état a été observé chez certaines souches pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*,...etc. La résistance dans ce cas est stable, permanente et transmissible sur un mode vertical (Carle, 2009, Lozniewski, 2010, Bouyahya et al, 2017).

I.3.5.2.2. Acquisition de gènes

La résistance acquise par acquisition de matériel génétique mobile (plasmide, transposon, intégron ...) est le modèle fréquemment observé chez les différentes populations bactériennes. Cette forme de résistance est transférable même à des bactéries d'espèces distinctes. Ce phénomène d'échanges et de transfert horizontal du matériel génétique est généralement réalisé selon trois manières différentes :

- 1- transfert d'ADN d'une bactérie à une autre par bactériophages (**transduction**).
- 2- transfert des gènes via des plasmides (**conjugaison**).
- 3- intégration par une bactérie des fragments d'ADN étrangère libérés dans l'environnement par d'autres bactéries (**transformation**).

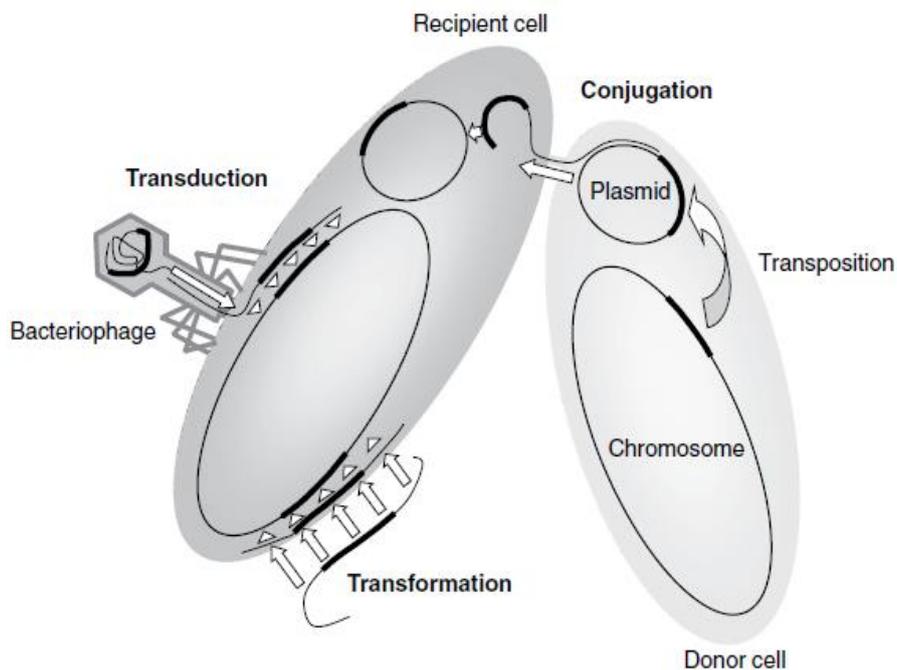


Figure 13 : Mécanismes de transfert génétique entre les bactéries (d'après Boerlin et White, 2013).

I.3.5.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé quatre principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques:

I.3.5.3.1. Modification de la cible d'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être modifiée suite à une mutation spontanée d'un gène sur le chromosome bactérien, mais parfois après l'acquisition de matériel génétique mobile. Une altération minime de la cible rend la molécule d'antibiotique incapable de se lier et d'exercer son activité au niveau de la bactérie.

Pour les bactéries gram-positives la modification du PBP (penicillin-binding proteins) est un mécanisme privilégié de résistance. Les PBP sont impliquées dans la construction de peptidoglycane dans la paroi cellulaire. Toute altération de PBP entraîne une affinité réduite pour les antibiotiques β -lactamines. Par exemple après acquisition du gène "*mec*" par *Staphylococcus aureus*, une nouvelle protéine de liaison à la pénicilline a été décrite PBP2a (penicillinbinding protein 2a), qui diminue l'affinité de germe aux antibiotiques de la classe β -lactamines. Les souches d' *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* ont une résistance élevée à la vancomycine et teicoplanine après altération des précurseurs du peptidoglycane.

Le précurseur naturel D-alanyl-alanine de haute affinité est remplacé par D-alanyl-lactate de faible affinité pour les glycopeptides. (Kapoor et al., 2017, Reygaert, 2018).

Il y a encore des altérations qui touchent les sous-unités ribosomales et qui concernent la résistance aux antibiotiques qui ciblent ce type d'organites comme les aminoglycosides, les macrolides, oxazolidinones, streptogramines. Ces mécanismes interfèrent avec la capacité des antibiotiques à se lier aux ribosomes. Pour les antibiotiques qui ciblent la synthèse des acides nucléiques (fluoroquinolones), des modifications des deux enzymes: l'ADN gyrase ou de la topoisomérase IV après mutation des gènes codants engendrent de la résistance.

Les sulfamides et le triméthoprime sont des inhibiteurs compétitifs des différentes étapes enzymatiques du métabolisme des folates. Les sulfamides inhibent l'enzyme acide dihydropteroic synthase (DHPS), tandis que le triméthoprime inhibe l'enzyme dihydrofolate réductase (DHFR). Des mutations du gène chromosomique codant DHPS ou acquisition d'un plasmide conduisent à la résistance aux sulfamides. Des mutations de DHFR conduisent à la résistance au triméthoprime (Kon et Rai, 2016 et Reygaert, 2018).

I.3.5.3.2. Inactivation enzymatique d'antibiotique

La neutralisation des antibiotiques par production d'enzymes est parmi les mécanismes le plus courant chez les bactéries, ce mécanisme est basé sur deux stratégies d'inactivation de l'antibactérien :

- inactivation par hydrolyse, exemple les β -lactamases constituent un groupe d'enzymes d'hydrolyse des antibiotiques chez les bactéries gram-négatives.
- L'inactivation de l'antibiotique par transfert d'un groupe chimique (acétyle, phosphoryle, adényle, thiol, nucléotidyl, ADP-ribosyle, glycosyle).

L'acétylation est le mécanisme le plus utilisé contre les différentes classes d'antibiotiques tel que les aminoglycosides, le chloramphénicol, les streptogramines et les fluoroquinolones. La phosphorylation et l'adénylation sont principalement utilisées contre les aminoglycosides (Kon et Rai, 2016, Bouyahya et al, 2017, Reygaert, 2018).

Les β -lactamases constituent un problème majeur dans le traitement des bactéries à Gram négatives, c'est le mécanisme de résistance le plus couramment utilisé par ces bactéries contre les β -lactamines. Ces enzymes peuvent être codées sur le chromosome bactérien ou acquises via un plasmide. La première β -lactamase qui a été identifiée est celui d' *E.coli* et est

codée chromosomiquement par le gène *ampC* (ainsi nommé pour la résistance à l'ampicilline). Les β -lactamases qui confèrent une résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération et à l'aztréonam, sont désignées comme BLSE (β -lactamases à spectre étendu).

Des inhibiteurs de la β -lactamases utilisés en association et en synergie avec des antibiotiques β -lactame pour lutter contre la résistance ; comprennent l'amoxicilline - acide clavulanique, l'ampicilline- sulbactam et la pipéracilline-tazobactam, mais certaines mutations ponctuelles confèrent une résistance aux bactéries gram-négatives contre ces inhibiteurs et ils élargissent le spectre des β -lactamases (Lozniewski, 2010 et Reygaert 2018).

Chez les bactéries Gram positives, les β -lactamases ne représentent pas un réel problème. Seules les pénicillinases ont été retrouvées et qui confèrent une résistance uniquement contre les pénicillines. Des exception chez certaines espèces de bactéries Gram positives telles que *Staphylococcus aureus* , *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* ; où des gènes de β -lactamase portés par les plasmides peuvent également être trouvés (Kon et Rai, 2016 et Reygaert, 2018).

I.3.5.3.3. Limitation d'absorption d'antibiotique

Les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans les bactéries Gram négatives via les porines. En effet tous changement dans la structure des porines (réduction de leur diamètre), dans leur nombre (perte ou diminution de leur expression) ou de leur affinité; se traduisent par l'acquisition de la résistance vis-à-vis un antibiotique ou vers de nombreux antibiotiques. (Muylaert et Mainil, 2012, bouyahya et al., 2017 et Kapoor et al., 2017).

Chez l'*E. coli*, la diminution dans l'expression de canaux poriques OmpF entraîne une diminution de l'entrée d'antibiotiques β -lactamines, quinolones, tétracyclines et chloramphénicol dans la cellule, d'où une résistance à ces classes d'antibiotiques (Muylaert et Mainil, 2012). En outre, on décrit récemment chez une bactérie à Gram positif, *Staphylococcus aureus* une résistance à la vancomycine. *S. aureus* utilise contre la vancomycine, un mécanisme encore inexpliqué permet aux bactéries de produire une épaisse paroi cellulaire qui limite l'entrée de l'antibiotique dans la cellule (Reygaert, 2018).

I.3.5.4. Efflux de l'antibiotique à l'extérieur

L'expulsion de l'antibiotique à l'extérieur de la cellule est médié par des protéines membranaires connues sous nom de pompes à efflux. Ces pompes sont présentes dans la membrane cytoplasmique, contrairement aux porines qui sont présentes dans la membrane externe (Kapoor et al., 2017).

Les pompes à efflux ont besoin d'énergie pour rejeter l'antibiotique ou le maintenir en faible concentration. Certaines de ces pompes sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour specific drug- resistance), alors que d'autres transportent plusieurs molécules et on les nomme pompes MDR (pour multiple-drug-resistance) (Muylaert et Mainil, 2012).

L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation des pompes à efflux, pour cela les bactéries ont développé des mécanismes de résistance à base de ces transporteurs pour toutes les classes d'antibiotique à l'exception de la polymyxine (Carle, 2009 et Muylaert et Mainil, 2012).

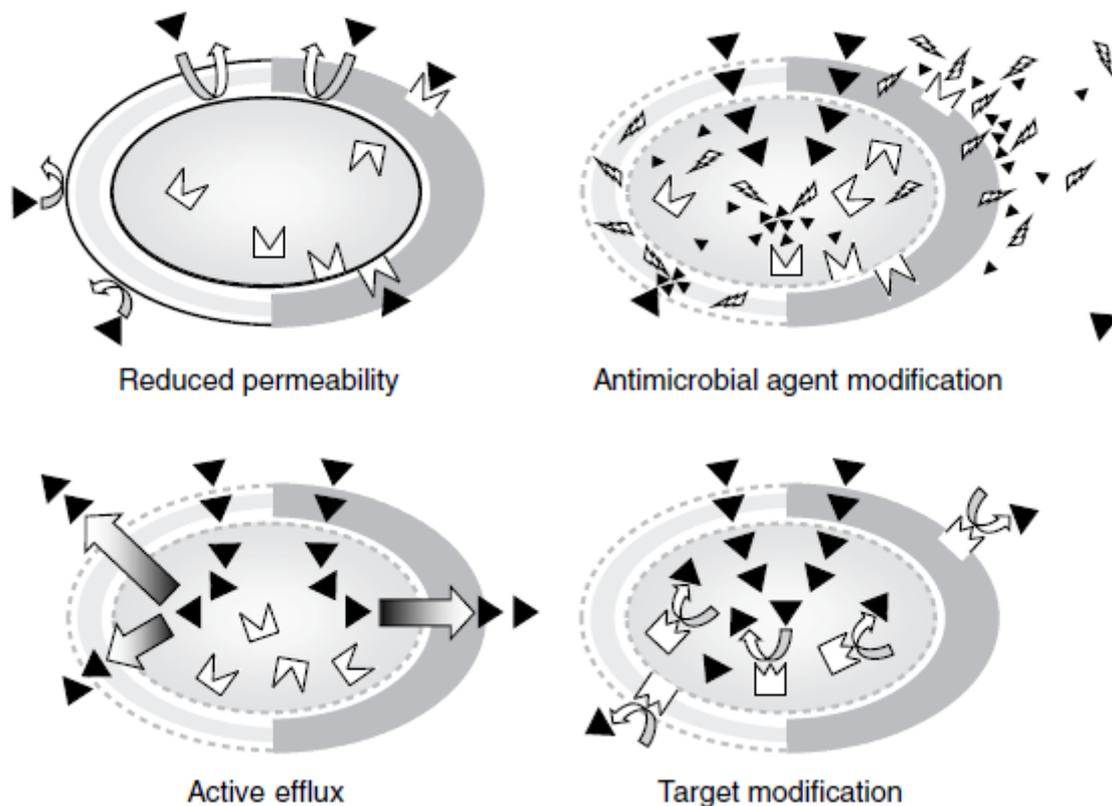


Figure 14 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques (d'après Boerlin et White, 2013).

Les mécanismes utilisés lors de la résistance intrinsèque sont, l'inactivation de l'antibiotique, limitation de leur absorption et l'efflux actif, alors que les mécanismes de résistance acquise peuvent être la modification de la cible, l'inactivation enzymatique et l'efflux actif de l'antibiotique.

Les bactéries gram-positives utilisent le plus souvent moins de mécanismes par rapport aux gram- négatives. Pour des raisons de structure (absence de la membrane externe), ils sont incapables de limiter l'absorption de l'antibiotique (Reygaert, 2018).

I.3.6. Multirésistance

Selon Boudergue et al., 2013 « *Les bactéries sont dites « multirésistantes » (BMR) quand elles ont acquis la résistance à au moins trois classes d'antibiotiques ; on les qualifie de « hautement résistantes » (BHR) quand elles résistent à la quasi-totalité des antibiotiques ».*

L'utilisation inadéquate et continue des antibiotiques dans la filière animale favorisent la sélection de souches multirésistantes. Deux phénomènes peuvent contribuer à l'émergence de ce type de souches :

I.3.6.1. Résistance croisée

On parle d'une résistance croisée, lorsqu'un mécanisme de résistance acquis par une bactérie contre un antibiotique quelconque lui confère une résistance contre les antibiotiques de même classe. La conséquence de ce type de résistance est la sélection croisée, Cela signifie que l'utilisation d'un seul antibiotique sélectionne des bactéries résistantes à tous les autres antibiotiques de sa classe, malgré ces bactéries n'ont jamais été exposées à ces molécules (Courvalin, 2008, Minvielle et Ellouze, 2010).

I.3.6.2. Co-résistance

On parle d'une Co-résistance lorsque plusieurs gènes codants pour la résistance à plusieurs antibiotiques de classes différentes sont associés dans le même élément génétique (intégron, transposon, plasmide). Les éléments génétiques mobiles (les plasmides) pouvant donc transférer en une seule fois de multiples gènes de résistance. La Co-sélection est la conséquence cette fois, dont l'utilisation d'un antibiotique sélectionne des bactéries non

seulement résistante a cet antibiotique mais résistantes également a d'autres antibiotiques de classe différentes (Courvalin, 2008, Minvielle et Ellouze, 2010).

I.3.7. Antibiorésistance chez les animaux d'élevage, quelles conséquences ?

Les conséquences majeures de l'apparition de souches résistantes dans les élevages sont les suivantes :

I.3.7.1. Transfert de la résistance

Le phénomène de la résistance en médecine humaine est en relation avec l'usage abusif et incontrôlé des antibiotiques dans le secteur médicale, mais il est aussi lié à l'utilisation des ces molécules dans la production animale. L'usage massif des antibiotiques dans les élevages a une incidence directe sur l'émergence de nombreuses souches résistantes ; qui sont libérées dans les excréments de ces animaux puis disséminées dans l'environnement. Le transfert de la résistance des animaux aux êtres humains peut se faire par voie de contact direct ou au moyen d'eau ou de nourriture contaminées (Carle, 2009).

Les bactéries commensales ou pathogènes issus de l'animal peuvent transférer leurs résistances aux bactéries propres à l'homme par un transfert horizontal de matériel génétique. Ce type de transfert joue un rôle important dans la dissémination et la propagation de la résistance aux antibiotiques entre les bactéries d'une même espèce ou d'espèces différents (van Vuuren, 2001, Doublet et al 2012).

Les APEC sont souvent résistantes à de nombreux antibiotiques, et les gènes codants cette résistance sont souvent associés aux plasmides. L'introduction de plasmides multirésistants de poulet via la nourriture dans l'intestin humain est une menace potentielle pour la santé humaine (Cummins et al., 2019).

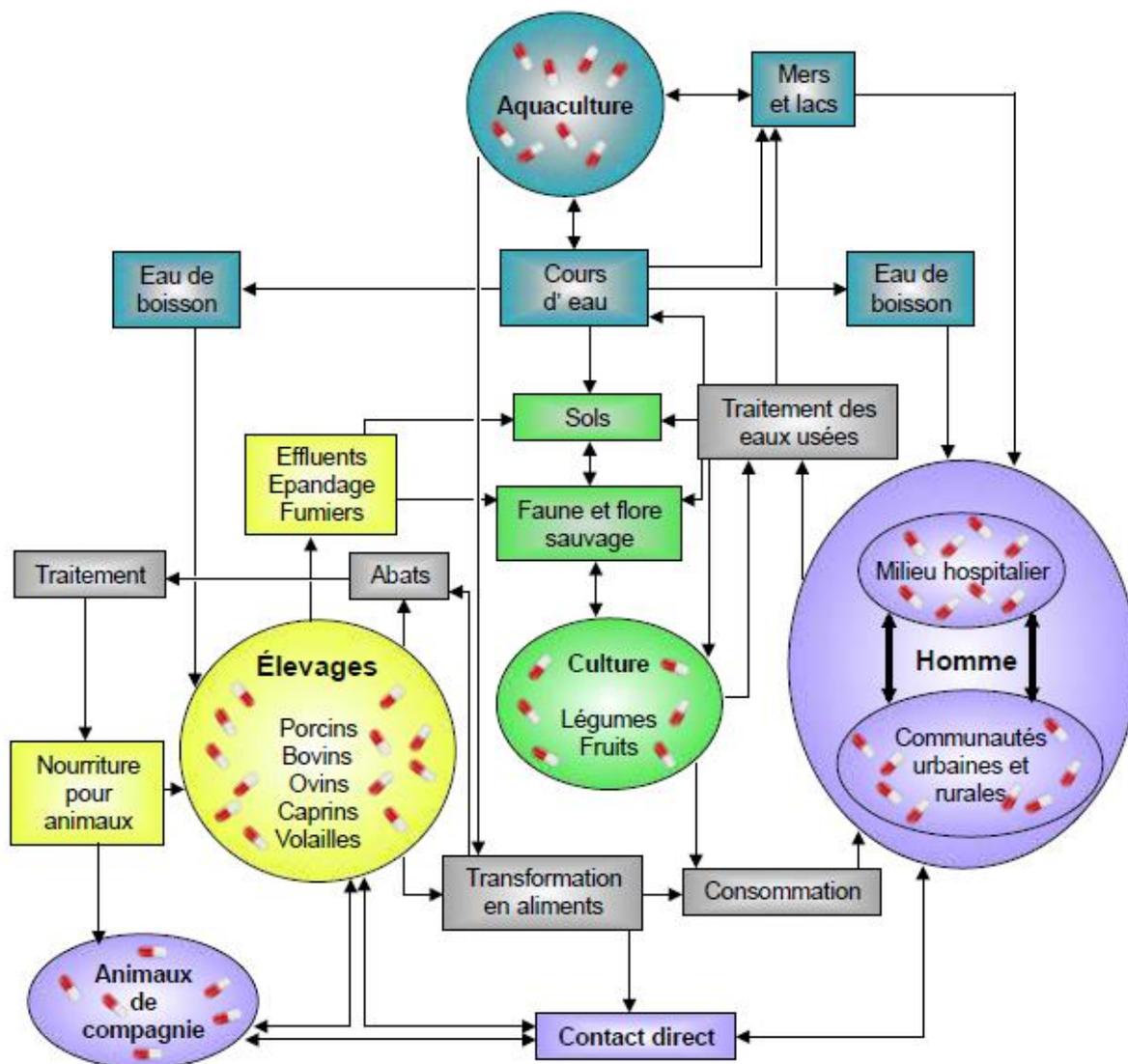


Figure 15 : Sources et modes de transmission de la résistance aux antibiotiques (d'après Doublet et al, 2012).

I.3.7.2. Pertes économique

La résistance aux antibiotiques peut également avoir un impact économique pour les éleveurs. La perte de l'efficacité thérapeutique des médicaments à base d'antibiotiques peut conduire à des complications graves dans les élevages, pourrait entraîner un ralentissement de la production animale, ce qui engendre des pertes économiques importantes. Selon Stordeur et Mainil, 2001, les pertes dues à la colibacillose ont été estimées à environ 5 ou 6 millions d'euros par an en Angleterre, elles sont principalement dues selon Mellata, 2013:

- Aux taux de mortalité élevé : Les infections à *E. coli* entraînent un taux de mortalité de 1 à 10% chez les poulets, avec des taux de mortalité encore plus élevés chez les

poulets de chair. Elle est encore la cause la plus courante de mortalité dans les couvoirs avec un pourcentage de 53,5%.

- Aux frais de traitement et de prévention.
- Au temps de production perdu.
- Aux saisies de carcasses aux abattoirs. D'après Stordeur et Mainil, 2001, 43% des carcasses saisies aux abattoirs anglais sont dues à des lésions de septicémies typiques de la colibacillose

Partie II

Étude expérimentale

II.1. Zones d'étude

L'étude a été réalisée dans 3 wilayas : Batna, Biskra et Khenchela. Le choix de ces trois régions comme cadre de cette étude a été motivé par l'essor spectaculaire de la filière avicole dans ces régions qui se traduit par l'abondance des élevages. Le choix obéit également au critère de la collaboration des éleveurs et des abattoirs avicoles. En effet il était nécessaire de connaître des intermédiaires pour avoir un accord des aviculteurs et des propriétaires d'abattoirs avicoles pour participer volontairement à notre étude.

La wilaya de Batna s'étend sur une superficie de 12.038,76 km² (latitude : 35°et 36° Nord ; longitude 4°et 7° Est), l'un des pôles avicoles les plus importants à l'échelle nationale, figure parmi les premières régions productrices de poulet de chair. L'aviculture s'est implantée dans les communes d'Aïn Touta, Barika et dans plusieurs régions montagneuses comme Arris, Theninet El Abed et Ichemoul.

La Wilaya de Khenchela, elle s'étend sur une superficie de 9.715 Km² (Latitude 35°26'08" Nord Longitude : 7°08'35" Est), L'agriculture constitue la principale activité économique de la wilaya, la région de Bouhmama (site d'étude) est parmi les régions montagneuses de la wilaya de khenchela. Les températures agréables de la région au cours la saison estivale favorisant l'activité avicole. Cette dernière diminue avec l'arrivée de la saison froide.

La wilaya de Biskra s'étend sur une superficie de 21671 Km² (Latitude : 34° Nord ; Longitude : 5° Est), elle a bénéficié ces dernières années d'un investissement important dans le secteur avicole, le groupe SALEM avicole comprenant 12 hangars de production de poulet de chair équipé d'un matériel moderne, chaque hangars à une capacité de 50000 poulet/bande. La production du groupe pouvait couvrir les besoins de la wilaya en viande blanche. Le groupe comprend également un couvoir, une unité de fabrication d'aliments de bétail et un abattoir.

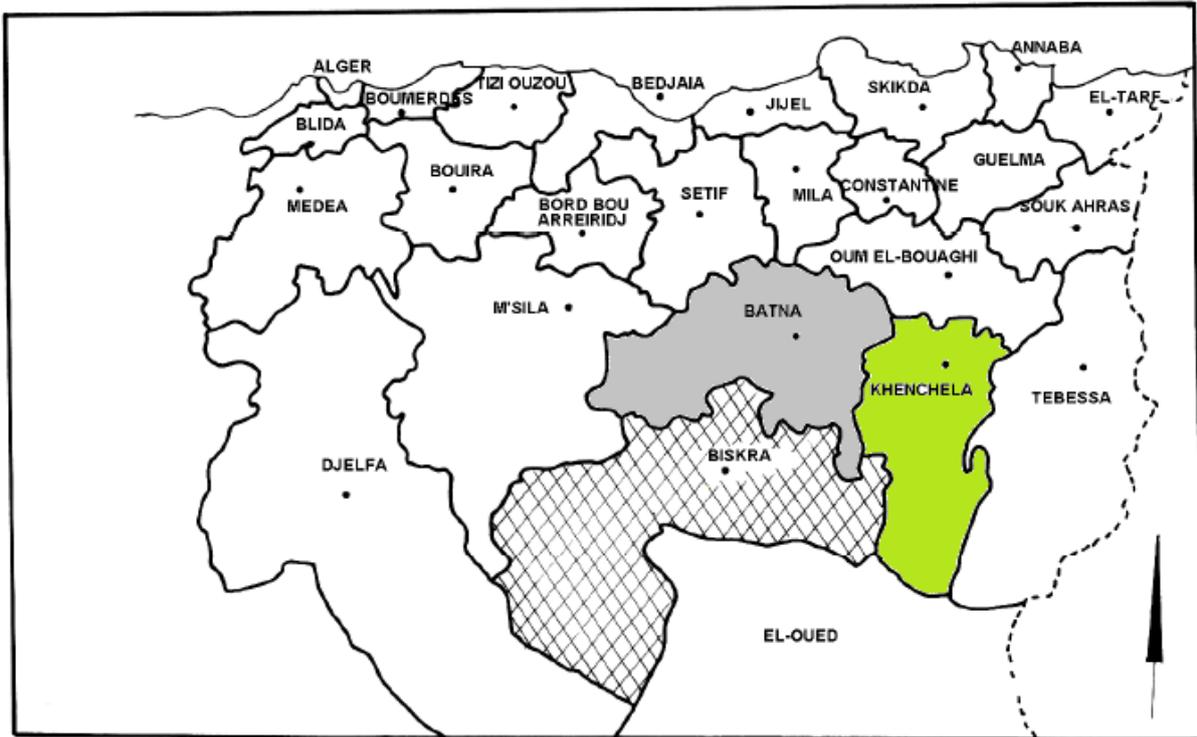


Figure 16 : Localisation des trois wilayas sources des prélèvements.

II.2. Stratégie d'étude

En vue d'étudier la résistance aux antibiotiques chez l'*E.coli* d'origine aviaire, deux approches ont été suivies: la première est réalisée au laboratoire, elle consiste à identifier des souches d'*E.coli* à partir des prélèvements intestinaux et extra-intestinaux provenant de poulet de chair et de tester leurs niveaux de résistance par la réalisation des antibiogrammes sur des milieux gélosés. La seconde est une enquête de terrain sous forme d'un questionnaire rempli par des vétérinaires praticiens de secteur privé. L'emploi de questionnaire nous a permis de récolter les informations voulues sur l'usage des antibiotiques dans les élevages avicoles; et il nous permettra en même temps de dévoiler les facteurs de risque qui pourraient intervenir dans la sélection des bactéries résistantes dans les poulaillers. Il était nécessaire donc de combiner les données de terrain (enquête) à l'expérimentation au laboratoire pour avoir une étude complète sur le sujet.

II.3. Matériel et méthode

II.3.1. Matériel

II.3.1.1 Poulailers

Notre étude a porté sur 23 élevages de poulet de chair. Les élevages relèvent tous du domaine privé, avec une production de 3000 sujets par bande et avaient une densité d'animaux supérieure à 10 poulets par m².

Les poulets de chair ont été élevés au sol, sur litière paillée, dans des bâtiments simples, conçus en plastique sous forme des serres, les murs des façades sont construits en brique, avec des fenêtres, sans ventilateurs.

Les bâtiments ont été aménagés à l'intérieur par l'installation d'un système d'abreuvement, de mangeoires selon l'âge des animaux et des chauffages, et afin de conserver la chaleur au tour des poussins et de limiter les déperditions de chaleur, un film plastique a été installé tout au tour de bâtiment.

Les animaux ont reçu les mêmes formulations d'aliment. Trois types d'aliment ont été utilisés selon les périodes d'élevage :

- Un aliment de démarrage.
- Un aliment de croissance.
- Un aliment de finition.

L'alimentation et l'eau sont distribuées ad libitum.

II.3.1.2. Abattoirs

Cinq abattoirs ont été visités au cours de cette étude, dont quatre abattoirs ont une petite production (1500 sujets abattus par jour), localisés dans la wilaya de Batna. Un seul abattoir de grande capacité (10000 sujets abattus par jour) qui fait partie du groupe SALEM avicole, est situé dans la wilaya de Biskra.

Tous les abattoirs fonctionnent de la même manière, l'abattage et l'éviscération sont réalisés à la main, le sang s'écoule par terre, les carcasses sont toujours souillées par le contenu intestinal des oiseaux et les déchets sont jetés dans les décharges publiques.

L'opération d'abattage débute par la saignée des oiseaux selon le rite musulman, les volailles saignées sont ensuite trempées dans un bac d'échaudage contenant de l'eau chaude (50 °C à 75 °C) pour faciliter la plumaison. Cette dernière s'effectue par une plumeuse à brosses rotatives, dont les doigts en caoutchouc de la machine extraient les plumes des follicules. Une fois plumées, l'éviscération commence par l'ouverture manuelle de la cavité abdominale puis l'arrachage en une fois de l'intestin, le gésier, le foie et parfois le cœur par les mains d'un manipulateur. Le reste de tube digestif (œsophage, jabot, proventricule et cloaque), les reins et les viscères thoraciques sont laissés attachés à la carcasse. Après, les têtes et les pattes sont coupées, les carcasses et les abats sont enfin lavés et stockés dans une chambre froide pour être fournis au client.

Tableau 7: Distribution des élevages et abattoirs selon les régions.

| régions | | Nombres des élevages | Nombres des abattoirs |
|----------------------|-----------|----------------------|-----------------------|
| Batna | Arris | 3 | 3 |
| | Ichemoul | 5 | 1 |
| | Oued Taga | 12 | 0 |
| Commune de Biskra | | 0 | 1 |
| Khenchela (Bouhmama) | | 3 | 0 |

II.3.1.3. Milieux de culture et réactifs utilisés

Les milieux de culture employés sont :

1- Bouillon nutritif

Il est préparé au département de science de la nature et de la vie de l'université de Biskra à partir d'un milieu déshydraté de la marque (Conda - Espagne). C'est un bouillon d'enrichissement non sélectif, il est employé pour favoriser la revivification et la multiplication des bactéries.

2- Gélose MacConkey

La gélose est préparée au département de science de la nature et de la vie de l'université de Biskra à partir d'un milieu déshydraté (Conda - Espagne). MacConkey est un milieu de culture sélectif utilisé pour l'isolement de nombreuses entérobactéries notamment l'*E.coli*.

3- Gélose Hektoen

Flacons de 250 ml, fournis par l'institut pasteur d'Algérie. Ils sont utilisés après un bain-marie à 100°C pendant une heure pour fondre la gélose. Hektoen est un Milieu sélectif pour l'isolement des entérobactéries pathogène.

4- Gélose TSI

Tubes contenant 10 ml de la gélose inclinée, fournis par l'institut pasteur d'Algérie.

5- Gélose Muller Hinton

Flacons de 250 ml, fournis par l'institut pasteur d'Algérie. Ils sont utilisés après la dissolution complètement de la gélose par passage au bain-marié (100°C). La gélose Muller Hinton simple sans addition est utilisée pour réaliser des antibiogrammes des souches d'*E.coli*, en suivant les recommandations EUCAST.

6- Galeries API20E (bioMérieux, Marcy l'étoile, France).

API 20E est un système pour l'identification des entérobactéries utilisant 20 tests biochimiques.

7- Sérums monospécifiques O1, O2 et O78

Réactifs coagglutinés aviaires, Ceva Biovac, Angers, France. Utiliser pour le sérotypage des souches d'*E.coli* isolées.

8- Disques d'antibiotiques

Les antibiotiques testés (HIMEDIA laboratories, Mumbai- india, et Bio-Rad Marnes-la-Coquette France) sont : Amoxicilline (AMX, 25µg), Ampicilline (AMP, 10 µg), Doxycycline (DOX, 30 µg), Chloramphenicol (C,30 µg), Sulfamide-trémitoprime (SXT, 1,25 /23,75 µg), Gentamycine (GMN,10µg), Kanamycine (K,30 µg), Acide Nalidixique (NA, 30), Ofloxacine (OF, 5 µg). Ciprofloxacine (CIP 5 µg).

II.3.2 Méthode

II.3.2.1 Prélèvements des échantillons et acheminement au laboratoire

Les prélèvements ont été effectués entre novembre 2016 et septembre 2017, Il s'agit de deux sortes de prélèvements répartis comme suit:

- 81 prélèvements provenant du cloaque des poulets de 23 poulaillers âgés de plus de 40 jours (âge où les traitements antibiotiques sont arrêtés) ne présentant aucun signe clinique. Un nombre de 3 à 4 prélèvements sont effectués pour chaque poulailler. Ces échantillons sont réalisés pour cibler l'*E.coli* de la flore intestinale (AFEC), récoltés à l'aide des écouvillons stériles, la tête de l'écouvillon était introduite dans le cloaque de l'animal, en effectuant de deux à quatre mouvements circulaires.
- 65 prélèvements ont été réalisés à partir du sang du cœur et des tissus affectés (foie, sac péricardique) présentant des lésions de colisepticémie. Les prélèvements recueillis au cours des 3 visites vers les 5 abattoirs avicoles, ont été réalisés pour cibler l'*E.coli* extra-intestinal (APEC).

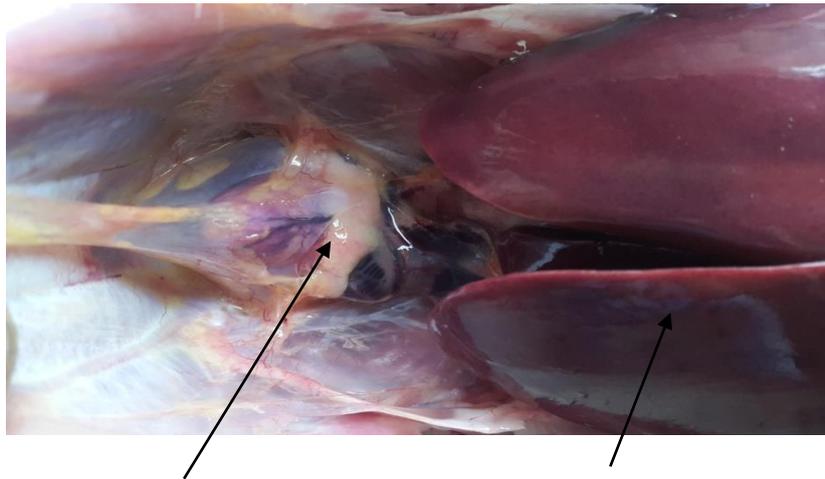
L'opération d'échantillonnage aux abattoirs commence dans la chaîne d'abattage, dont l'ouverture manuelle de la cavité abdominale des poulets qui ont passé l'étape de plumaison laisse apparaître le foie. Des lésions congestives et fibrineuses au niveau hépatique peuvent constater sur certaines carcasses. Pour chaque visite à un abattoir, un nombre de 4 à 5 carcasses présentant des lésions hépatiques, sont retiré de la chaîne d'abattage pour faire des prélèvements sur une partie de ces organes internes.

Pour les prélèvements hépatiques, l'écouvillon est humecté d'un peu de sérum physiologique stérile, ensuite en frotte l'écouvillon trois à quatre fois, de haut en bas au niveau de la lésion congestive ou fibrineuse.

Les prélèvements réalisés au niveau de cœur ont été effectués après l'extraction de l'organe en utilisant des gants stériles. Il n'est pas risqué de contaminer le cœur en absence d'incision de tube digestif. L'écouvillon est introduit dans le sac péricardique en frottant légèrement pendant 30 secondes. Selon Stordeur et Mainil, (2002) et Nolan et al, (2015), Un écouvillonnage de foie ou de sac péricardique, sont d'excellents prélèvements pour l'isolement des APEC.

Les lésions rencontrées lors des prélèvements sur organes sont typiques d'une colisepticémie, le péricarde à un aspect opaque et œdémateux (Stordeur et Mainil, 2002). Parfois il prend une couleur jaune à blanchâtre (Nolan et al., 2015). Pour le foie, il est congestionné et une couche fibrineuse couvrait l'organe (Stordeur et Mainil, 2002 et Nolan et al., 2015).

Immédiatement après leur réalisation, les prélèvements ont été étiquetés en utilisant un code puis transportés dans un sac isotherme au laboratoire.



Péricarde œdémateux avec dépôt de fibrine

Foie congestionné

Figure 17 : Lésions de Colisepticémie dans une carcasse.

Tableau 8: Nombre des prélèvements réalisés selon les régions.

| Régions | | Prélèvements (élevages) | Prélèvements (abattoirs) |
|----------------------|-----------|-------------------------|--------------------------|
| Batna | Arris | 12 | 37 |
| | Ichemoul | 17 | 13 |
| | Oued Taga | 38 | 0 |
| Commune de Biskra | | 0 | 15 |
| Khenchela (Bouhmama) | | 14 | 0 |

II.3.2.2 Analyses bactériologiques

Les échantillons étaient conservés à +4 °C en attente de l'analyse bactériologique. La conservation des prélèvements ne pose pas un problème technique puisque l'*E.coli* peut continuer à survivre à une température de réfrigération (Avril et al., 1992, et Denis et al., 2011). Dans notre étude, l'analyse a débutée dans un délai ne dépasse pas les 48 heures après la collecte des échantillons.

Les analyses ont été réalisées au laboratoire du département des sciences de la nature et de la vie de l'université de Biskra et dans le laboratoire d'hygiène de la daïra d'Arris, wilaya de Batna. Une étape d'enrichissement est réalisée dans un bouillon nutritif qui permet à la bactérie recherchée de se multiplier avant l'étape d'isolement. Après enrichissement, l'isolement a été réalisé par ensemencement sur gélose MacConkey pour les prélèvements cloacaux et la gélose Hektoen pour les échantillons réalisés sur des lésions de colisepticémie, puis incubation à 37°C pendant 24h. l'*E.coli* se pousse bien sur les milieux usuels permettant la croissance des bacilles Gram négatifs (CLED, BCP, MacConkey, hecktoen, etc.) en donnant de colonies rondes, lisses, à bords réguliers de couleur rose dans le milieu MacConkey et jaune-saumon dans la gélose hektoen (Avril et al, 1992, Hart et Shears,1997, Delarras, 2010, Denis et al., 2011,).

Après une lecture morphologique, les colonies ont un aspect semblable a celui d'*E.coli* sont ré-isolées sur le même milieu afin d'obtenir de souches pures. Ensuite, les colonies étaient confirmées par les tests biochimiques grâce d'abord au TSI (Tri-Sugar-Iron : Institut Pasteur Algérie). La gélose TSI représente le premier test d'orientation pour l'identification biochimique des entérobactéries, basée sur la fermentation des sucres (glucose, lactose et saccharose) et la production de sulfure d'hydrogène (Elgroud et al., 2008, Denis et al., 2011). La confirmation biochimique se faisait encore grâce aux galeries API 20 E. API 20E est un système pour l'identification rapide des entérobactéries utilisant 20 tests biochimiques (Presscott et al., 2003). Pour inoculer la galerie, il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL avec une suspension bactérienne d'opacité 0,5 sur l'échelle de Mac Farland , et pour les autres tests; on va remplir uniquement les tubes (et non les cupules) avec la création d'une anaérobiose dans les tests: ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leur cupule par l'huile de paraffine. Enfin, on incube à 37 C° pendant 18-24 heures. La lecture de l'API20E nécessite de disposer de kits de réactifs supplémentaires (TDA, Kovacs, VP1+VP2) et d'un tableau de lecture bioMériex.

II.3.2.3. Sérotypage

Le sérotypage des isolats est déterminé par une réaction d'agglutination sur lame, en utilisant les sérums monospécifiques O1, O2 et O78. Ces sérogroupes sont les plus dominants dans la distribution des APEC (Stordeur et al, 2002).

Le serotypage est effectué, à partir d'une culture pure et fraîche d'*E.coli* isolée sur une gélose nutritive. Avant de débiter l'opération il faut s'assurer de la validité de l'épreuve, pour cela il faut vérifier :

- L'absence d'agglutination de serum-test avec l'eau physiologique.
- L'absence d'auto-agglutination des souches des *E.coli* à tester, qui peut être constatée dès le mélange de 3 à 4 colonies bactériennes avec une goutte d'eau physiologique.

La technique de sérotypage comporte les étapes suivantes :

- Bien agiter les antiserums avant chaque application.
- Une goutte d'immunosérum est déposée sur une lame.
- Mélanger à l'aide d'une anse de platine 3 à 4 colonies d'*E.coli* avec l'immunosérum pendant 5 secondes pour faire une suspension homogène.
- Bien secouer la lame pendant 30 secondes.
- Observer le mélange à l'œil nu, de préférence au-dessus d'une surface sombre.

La présence de l'antigène capsulaire K pour certaines souches d'*E.coli* empêche l'agglutination de l'antigène O avec les sérums test et donc le sérotypage des isolats. La procédure adoptée dans ce cas pour le typage des cultures d'*E.coli* probablement capsulées est celle décrite par Guinee et al., (1972) et modifié par blanco et al., (1992).

Chaque souche est inoculée dans 10 ml de bouillon nutritif et incubé à 37 ° C pendant une nuit, le lendemain les cultures des bouillons sont chauffées au bain marie à une température de 100°C pendant 1h. Après refroidissement en réalise le sérotypage des souches grâce toujours aux trois sérums monospécifiques. Les souches n'ayant pas montré d'agglutination avec les sérums de typage ont de nouveau été cultivés dans des bouillons nutritifs pendant 24h, ensuite les bouillons ont été passés à l'autoclave pendant 2,5 h à 121 ° C pour débarrasser les bactéries de certaines capsules résistantes à la chaleur. Les souches qui ont donné des réactions négative au sérotypage sont considérées comme souches non typables.

II.3.2.4. Antibiogramme

La résistance aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de la diffusion en milieu gélosé, conformément aux indications EUCAST/CASFM. Chaque souche a été testée pour 10 antibiotiques. Les antibiotiques utilisés et leurs familles sont présentés dans le tableau ci-après :

Tableau 9 : Familles d'antibiotiques.

| Antibiotiques | Familles |
|-----------------------|-----------------------------------|
| Ampicilline | β -lactamines (pénicilline) |
| Amoxicilline | β -lactamines (pénicilline) |
| Doxycycline | Tétracyclines |
| Chloramphénicol | Phénicolés |
| Sulfamide-trémitoprim | Sulfamides |
| Kanamycine | Aminosides |
| Gentamycine | Aminosides |
| Acide nalidixique | Fluoroquinolones |
| Ofloxacin | Fluoroquinolones |
| Ciprofloxacine | Fluoroquinolones |

L'antibiogramme est réalisé sur une gélose Mueller Hinton répartie uniformément dans les boîtes de pétri avec une épaisseur de 4 mm \pm 0,5 mm. La technique d'antibiogramme comporte quatre étapes en suivant les indications EUCAST :

- **Préparation de l'inoculum**

Mise en suspension des colonies pures d'*E.coli* dans 10 ml eau physiologique. La turbidité de la suspension bactérienne soit équivalente à celle de l'étalon (opacité 0,5 McFarland).

- **Ensemencement**

Il consiste à déposer quelques gouttes de la suspension sur la surface de la gélose. Ensuite la suspension est étalée sur toute la surface du milieu de culture à l'aide d'un râtelier, l'excès de la suspension est aspiré par une pipette pasteur.

- **Dépôt des disques**

Les disques d'antibiotiques sont alors déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince flambée. Les disques une fois déposés ne doivent pas être déplacés car l'antibiotique diffuse très rapidement autour de chaque disque.

- **Incubation et lecture**

La lecture s'effectue après 18 à 20 h d'incubation, elle consiste à mesurer les diamètres d'inhibition de la culture autour de chaque disque manuellement à l'aide d'une règle, puis les résultats sont interprétés selon les critères EUCAST et du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (EUCAST/CASFM, 2017).

II.3.2.5. Analyse statistique

Afin de comparer la différence des pourcentages de résistance aux divers antibiotiques entre les *E.coli* AFEC et APEC, le test exact de Fisher a été réalisé sur le site de bio-statistique en ligne **BiostaTGV**. Les différences ont été considérées comme significatives à $p < 0,05$ (intervalle de confiance de 95 %).



Figure 18 : Etapes d'identification d'*E.coli*.

II.4. Objectifs et méthodologie de l'enquête

Une enquête, réalisée de juillet 2017 à juin 2018, s'est appuyée sur un questionnaire destiné aux vétérinaires praticiens exerçants dans les 3 wilayas sources de prélèvements.

L'objectif principal de l'enquête était la recherche de la présence de pratiques à risque en matière d'utilisation des antibiotiques; favorisant l'émergence de bactéries résistantes dans les poulaillers. Par ailleurs, la collecte des renseignements sur les élevages avicoles des régions d'étude, et des informations et connaissances sur l'utilisation des antibiotiques chez le poulet de chair constitue l'objectif secondaire de cette enquête.

Selon la législation, Les vétérinaires sont les seuls ayants droit à utiliser les antibiotiques chez les animaux destinés à la consommation. Les antimicrobiens sont des outils essentiels pour les vétérinaires pour assurer le maintien de la santé et du bien-être des animaux, mais Il est essentiel qu'ils soient prescrits de manière responsable. Une compréhension approfondie des pratiques de prescription actuelles des vétérinaires et de leurs raisons de prescrire des antibiotiques à travers une enquête menée sur le terrain; pourrait offrir des données pour interpréter nos résultats obtenus au laboratoire.

Le vétérinaire est une source également de conseil pour les éleveurs, en offrant des conseils sur la gestion des élevages, la maîtrise des conditions d'ambiances et l'hygiène des locaux. Le vétérinaire visite régulièrement les poulaillers, il organise des examens cliniques et nécropsique et il mène des investigations profondes pour établir des diagnostics précis lors de déclaration des maladies. Pour cela on a interrogé les vétérinaires sur les élevages; du fait de leur connaissance extrême des élevages dans lesquels ils interviennent et on a ajouté des questions sur certaines pratiques illégitimes des aviculteurs; du fait des liens et de relations de confiance établies avec les éleveurs.

II.4.1. Elaboration du questionnaire

Le questionnaire est rédigé par nous même en absence d'un questionnaire de référence permettant de répondre aux objectifs de l'étude. Les questions posées et leur formulation sont originales provenant de nos réflexions et expériences personnelles. La lecture de nombreuses études sur la menace potentielle que représentent pour la santé humaine une utilisation inappropriée d'antibiotiques chez les animaux d'élevage, en plus de mon expérience en tant

que vétérinaire praticien pendant deux ans, tout cela m'a permis de savoir formuler des questions précises pour cibler les facteurs de risque liés à l'utilisation des antibiotiques dans les élevages avicoles.

Le questionnaire simple contient dix sept questions fermées et deux questions ouvertes. La plupart des questions sont fermées pour faciliter l'exploitation statistique mais aussi pour faciliter les réponses aux vétérinaires qui sont constamment occupés en dehors de leurs cabinets, et parfois débordés par la surcharge du travail. Le questionnaire comprend des questions variables à réponses simples ou multiples, sous forme de case à cocher pour les questions fermées, et à réponses courtes en quelques lignes pour les deux questions ouvertes. Le questionnaire interroge les vétérinaires sur quatre thèmes :

- 1- Les quatre premières questions du questionnaire ont été élaborées dans le but de mieux connaître les élevages de poulet de chair des régions d'étude, les questions se portent sur :
 - L'élevage dominant dans la région (poulet de chair, poule pondeuse, dinde, caille, autres).
 - Le type d'élevage (intensif / libre).
 - Le respect des normes de construction des bâtiments d'élevage.
 - Le respect des règles d'hygiène en élevage.
- 2- Dix questions abordaient le sujet d'utilisation des antibiotiques dans les élevages, on s'intéressait :
 - Aux motifs de leur utilisation : facteur de croissance, traitement préventif et traitement anticoccidien.
 - A la fréquence d'utilisation des différentes molécules d'antibiotiques : molécules souvent, quelque fois et jamais utilisées.
 - Aux modalités de prescription des antibiotiques: en monothérapie ou en association.
 - A la voie choisie lors d'administration des antibiotiques et la supervision de l'opération d'administration.
 - A la possibilité de vendre les antibiotiques sans ordonnance.
- 3- Trois questions sur l'échec de traitement, elles concernent :
 - Le taux d'échec thérapeutique.
 - Le recours à l'antibiogramme après l'échec d'antibiothérapie.
 - La possibilité de rencontre des situations d'impasse thérapeutique.
- 4- Deux questions à la fin permettant de recenser les comportements des éleveurs face au respect de la durée de traitement et le délai d'attente des antibiotiques.

II.4.2. Choix des vétérinaires

Le métier vétérinaire est très vaste, néanmoins on peut classer les vétérinaires en deux grands groupes : les vétérinaires du secteur privé représenté principalement par les vétérinaires libéraux, propriétaire de cabinets ou des cliniques et ceux du secteur public qui relèvent de l'autorité de l'état.

Le questionnaire a été élaboré et adressé uniquement aux vétérinaires praticiens libéraux. En principe ces vétérinaires sont les plus qualifiés de répondre à nos questionnaires parce qu'ils sont les principaux acteurs qui assurent les services cliniques notamment les traitements des maladies animales. Les vétérinaires libéraux sont également les plus nombreux et les plus présents dans les zones rurales qui exigent beaucoup de déplacements.

Les vétérinaires du secteur public travaillant dans différents postes étatiques (DSA, subdivisions agricoles, APC.....) présents au niveau central (wilaya, daïra, commune), sont occasionnellement autorisés à exercer la médecine et la chirurgie des animaux, cette tâche ne fait pas partie de leurs principales missions. Cependant les vétérinaires du secteur public sont mandatés par l'état pour assurer certaines fonctions à titre public comme la surveillance des zoonoses et des maladies de bétail, surveillance de la sécurité sanitaire des aliments et la santé publique (inspection des produits animaux commercialisés).

II.4.3. Diffusion et remplissage du questionnaire

Les questionnaires ont été diffusés aux vétérinaires par le biais de deux amis vétérinaires, qui avaient accepté de se voir confier de cette tâche : le docteur Moussaoui Djamel et le docteur Gulfen Brahim, qui ont des cabinets situés respectivement dans les communes d'Ichemoul et Oued-Taga appartenant à la wilaya de Batna. Ces deux vétérinaires seraient-ils notre intermédiaire pour envoyer ces questionnaires aux vétérinaires des régions d'étude. 27 questionnaires ont été distribués directement par notre intermédiaire. Le reste des questionnaires ont été diffusés aux participants par les livreurs des produits vétérinaires, qui ont établi une relation de confiance avec notre intermédiaire.

Les distributeurs en gros de médicaments vétérinaires situés dans les wilayas de Constantine et Batna, assurent l'approvisionnement en produits vétérinaires des cabinets vétérinaires de plusieurs wilayas de l'est comprenant les wilayas de notre étude. Les livreurs chez les grossistes- distributeurs assurent la livraison des commandes avec des véhicules

automobiles. Ces livreurs ont été utilisés par notre intermédiaire pour diffuser le questionnaire au sein des vétérinaires des régions d'étude.

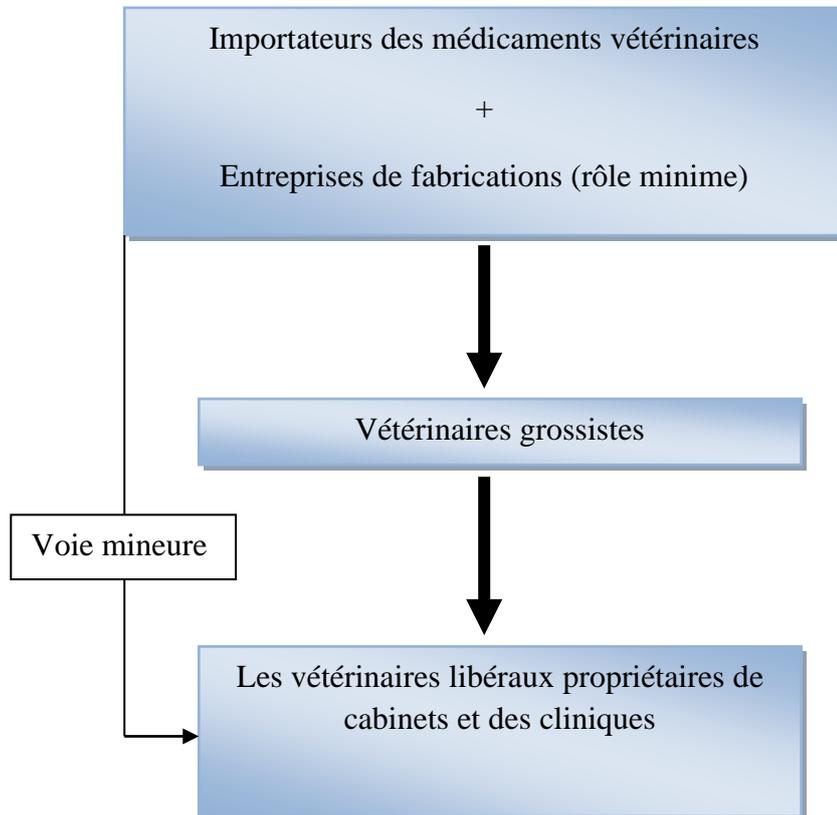


Figure 19 : Circuit d'approvisionnement en produits vétérinaires en Algérie.

Tous les vétérinaires ayant pris le temps souhaité pour répondre au questionnaire. Les réponses sont obtenues parfois après trois mois; malgré le questionnaire a été conçu pour être rempli en 30 minutes maximum. Cette méthode de laisser le vétérinaire remplir le questionnaire tranquillement chez lui a été choisie afin d'enlever le mal alaise lié à la présence de l'enquêteur. Par exemple, un questionnaire en face à face en cabinet vétérinaire peut être interrompu après l'arrivée d'un animal malade ou suite d'une appelle téléphonique d'urgence. La présence d'un enquêteur peut également influencer la fiabilité des réponses données, le vétérinaire peut donner des réponses ne reflètent pas nécessairement la réalité du terrain, pour se conformer aux attentes de l'enquêteur.

II.4.4. Collecte des questionnaires et analyse des résultats

Après leur remplissage, Les questionnaires ont été récupérés par notre intermédiaire. Au total, 58 questionnaires ont été collectés. Lors du dépouillement, les questionnaires présentant des non-réponses ont été éliminés de la saisie, soit 12 questionnaires en tout. L'analyse a donc porté sur 46 questionnaires. Les données ont été analysées à l'aide de la version 2007 de Microsoft Excel, afin d'obtenir des pourcentages sur chaque question. Dans le cas où plusieurs cases d'une question ont été cochées, toutes les réponses sont prises en compte dans le calcul des pourcentages.

II.5. Résultats de laboratoire

II.5.1. Distribution globale des souches isolées

Sur le totale de 146 échantillons traités, nous avons identifié :

- 25 souches d'*E.coli* isolées à partir de 81 prélèvements cloacaux ce qui représente 30,86%
- 35 souches APEC isolées à partir de 65 prélèvements réalisés sur des lésions de colisepticémie, soit un taux de 53,85% des isolats.

Le tableau ci- après exprime le pourcentage des isolats AFEC et APEC par nature de prélèvement.

Tableau 10 : Nombre et pourcentage des AFEC et APEC isolés.

| <i>E.coli</i> | Origine des prélèvements | Nombre de prélèvements | Nombre d'isolats | Pourcentage d'isolats |
|---------------|--------------------------|------------------------|------------------|-----------------------|
| AFEC | Cloaque | 81 | 25 | 30,86% |
| APEC | Foie | 39 | 14 | 35,9 % |
| | Cœur | 26 | 21 | 80,77 % |
| | Total des APEC | 65 | 35 | 53,85% |

II.5.2. Morphologie et caractères biochimiques

Les colonies des souches d'*E. coli* isolées apparaissent arrondies, convexe ou bombés à bord régulier de couleur roses sur le milieu MacCkocny et saumon sur la gélose Hektoen. A l'état frais les bactéries se présentent sous forme de bâtonnets mobiles (sauf une seule souche biovar *Alkalescens dispar*) dont la largeur et la longueur varient.



Figure 20 : Aspect des colonies d'*E.coli* sur Hektoen et MacConkey.

Une seule souche d'*E.coli* extra-intestinale a été isolée fortuitement à partir des colonies lactose négatif. En effet lors de l'étape d'isolement, les colonies qui ont un aspect différent de celui d'*E.coli* ont été sélectionnées pour être identifiées. Mais à cause du manque de réactifs, l'opération est arrêtée.

Les caractères biochimiques positifs caractérisant toutes les souches d'*E.coli* isolées sont la production d'indole et l'utilisation du glucose et du mannose. Les tests retrouvés constamment négatifs sont : sulfure d'hydrogène (H₂S), arginine dihydrolase (ADH), tryptophane désaminase (TDA), test Vosges-Proskauer (VP), urée, gélatinase, citrate de Simmons, inositol et fermentation de l'amygdaline. Une seule souche lactose négatif ne possède pas la β galactosidase.



Figure 21 : *E.coli* avec test ONPG négatif (biovar *Alkalescens dispar*).

Sur la gélose TSI (Tri-Sugar-Iron), les souches d'*E.coli* sont productrices du gaz lors de la fermentation du glucose sauf la souche biovar *Alkalescens dispar*.



Figure 22: Test TSI

Les autres caractères variables sont présentés dans tableau ci-après (tableau 11).

Tableau 11 : Caractères biochimiques variables des souches d'*E.coli* isolés.

| Caractères biochimiques | APEC | | AFEC | |
|-------------------------|------|----|------|----|
| | + | - | + | - |
| ONPG | 34 | 1 | 25 | 0 |
| LDC | 32 | 3 | 15 | 10 |
| ODC | 23 | 12 | 4 | 21 |
| SOR | 34 | 1 | 25 | 0 |
| RHA | 34 | 1 | 16 | 9 |
| SAC | 22 | 13 | 10 | 15 |
| MEL | 31 | 4 | 12 | 13 |
| ARA | 34 | 1 | 24 | 1 |

II.5.3. Résultats de sérotypage

Les 35 souches APEC identifiées ont été subi un sérotypage par des immunsérums monovalents (O1, O2, O78) selon la méthode décrite précédemment.

Quatre souches sérotype O78 ont été identifiées dans la première étape de sérotypage. Ce qui représente un pourcentage de 11,43% des isolats.

En revanche aucun des trois sérotypes n'ont été décelés après le chauffage des souches pour démasquer l'antigène capsulaire K. 31 souches sont considérées donc comme non typables (88,57% des isolats).



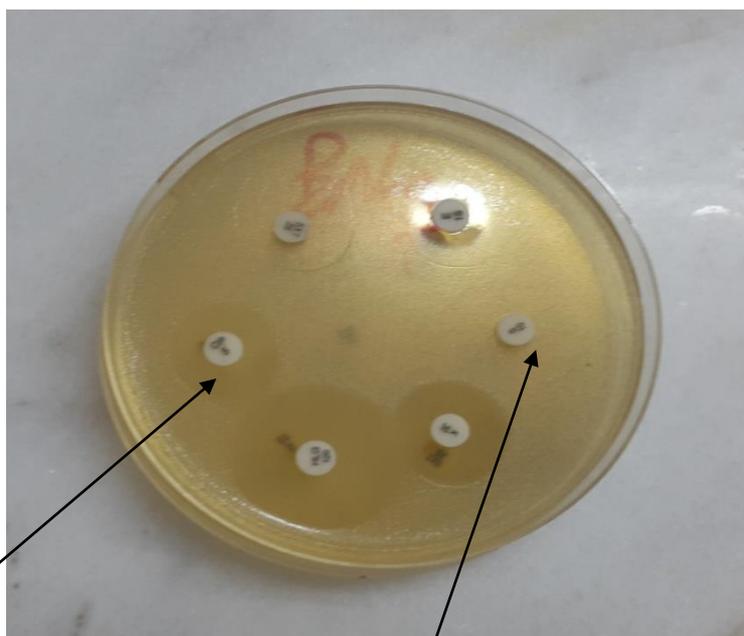
Figure 23 : Réaction d'agglutination O78.

II.5.4. Résultats d'antibiogramme

Toutes les souches isolées (AFEC et APEC) semblent présenter une résistance face à certains antibiotiques testés. Un taux de résistance de 100% pour la Doxycycline et des pourcentages de résistance proches de 100% pour la classe des pénicillines ont été enregistrés chez les AFEC. De forts taux de résistance pour l'ensemble des isolats (AFEC et APEC) ont été remarqués pour : Doxycycline (98,33%), Amoxicilline (90%), Ampicilline (80%), Sulfamide-trémitoprimine (78,33%), Kanamycine (65%), Acide nalidixique (85%), Ofloxacine (58,33%), Ciprofloxacine (61,66%). Un taux de résistance moyen est enregistré pour Chloramphenicol (38,33%). Un faible taux de résistance est observé pour la Gentamycine (3,33%).

Les résultats de l'analyse statistique ($p < 0,05$, test exact de Fisher) confirment une différence significative entre les taux de résistances enregistrés chez les souches AFEC et les souches APEC pour deux antibiotiques.

L'Ampicilline et l'Ofloxacine présentant des taux de résistances des souches AFEC significativement supérieures à celui des APEC.



a) résistance (faible diamètre d'inhibition) b) résistance (absence de diamètre d'inhibition)

Figure 24 : Résistance aux antibiotiques dans les antibiogrammes réalisés.

Les taux de résistance aux antibiotiques obtenus sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 12 : Taux de la résistance aux antibiotiques des différentes souches d'*E.coli* isolées des poulets de chair au nord-est d'Algérie.

| Antibiotiques | AFEC (%) | APEC (%) | Total des isolats (%) |
|------------------------|-------------|-------------|--------------------------|
| Amoxicilline | 92 | 88,57 | 90 |
| Ampicilline● | 96 | 68,57 | 80 |
| Doxycycline | 100 | 97,14 | 98,33 |
| Chloramphénicol | 32 | 42,85 | 38,33 |
| Sulfamide-trémitoprimé | 84 | 74,28 | 78,33 |
| Kanamycine | 60 | 68,57 | 65 |
| Gentamycine | 4 | 2,85 | 3,33 |
| Acide nalidixique | 88 | 82,85 | 85 |
| Ofloxacine● | 76 | 45,71 | 58,33 |
| Ciprofloxacine | 76 | 51,42 | 61,66 |

●différence statistiquement significative entre souches AFEC et APEC.

II.5.5. Multirésistance chez les AFEC et APEC

La majorité des souches isolées (98,33%) présentent une résistance face à plusieurs antibiotiques testés. Par ailleurs une seule souche APEC apparaisse résistante pour deux antibiotiques. On retrouve davantage de bactéries résistantes à plus de six antibiotiques chez les AFEC. Alors que les pourcentages de bactéries multirésistantes sont relativement variés chez les APEC.

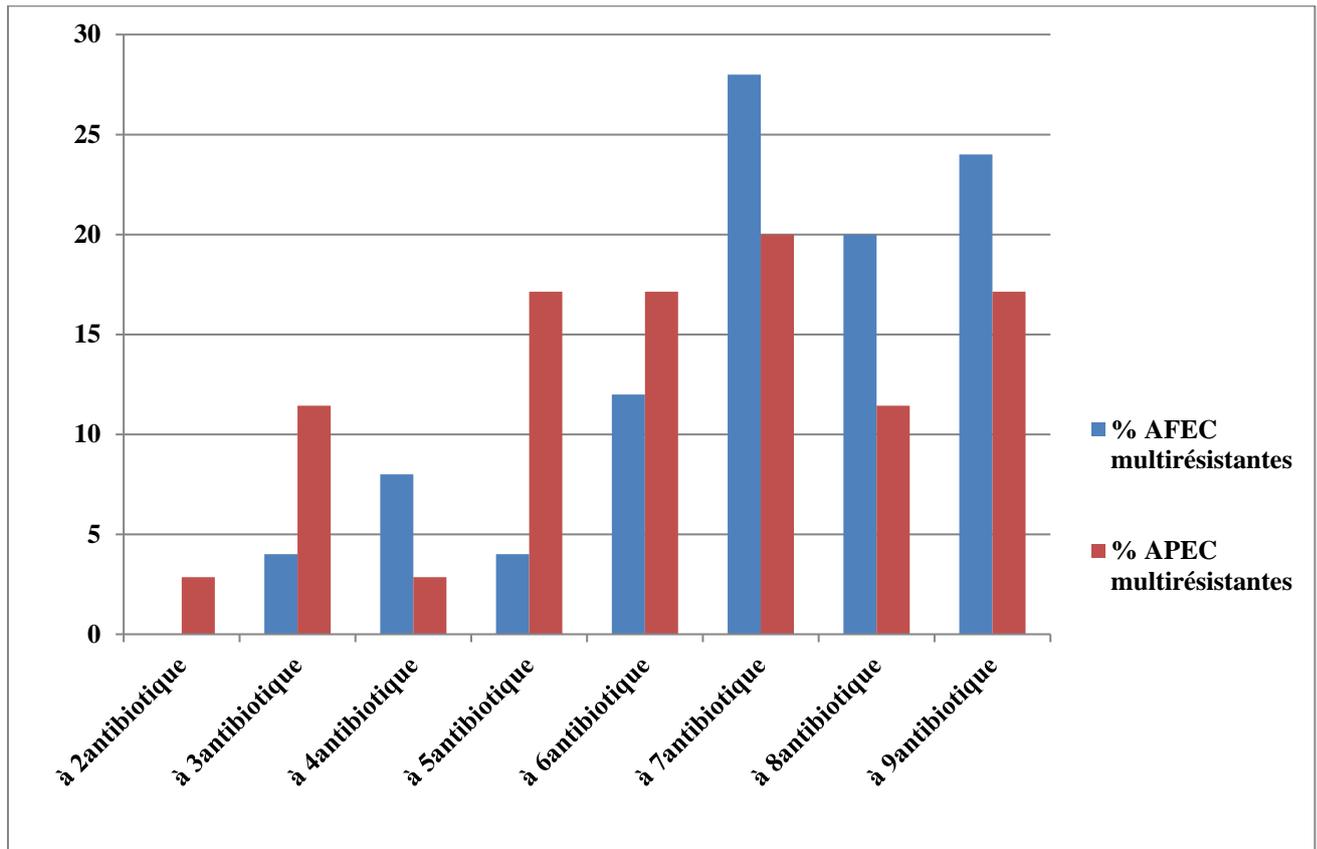


Figure 25 : Pourcentage des bactéries multirésistantes chez les AFEC et APEC.

Les taux des multirésistances enregistrés et les antibiotypes les plus fréquents sont présentés dans les tableaux 13 et 14.

Tableau 13 : Multirésistance chez les différents isolats.

| multi-résistances | AFEC (%) | APEC (%) |
|-------------------|----------|----------|
| < 7 antibiotiques | 28 | 51,43 |
| ≥ 7 antibiotiques | 72 | 48,57 |

Tableau 14 : Antibiotypes retrouvés chez les deux types de souches.

| Antibiotypes | AFEC (%) | APEC (%) |
|--------------------------------|-------------|-------------|
| DOX,K | 0 | 2,86 |
| DOX, K,NA | 0 | 8,57 |
| DOX, SXT,NA | 4 | 0 |
| AMX, DOX,NA | 0 | 2,86 |
| C, AMX, DOX, SXT | 0 | 2,86 |
| AMP, AMX DOX, K | 4 | 0 |
| AMP, AMX, DOX, SXT | 4 | 0 |
| C, AMP, DOX, SXT, K | 0 | 2,86 |
| C, AMP, DOX, SXT, NA | 0 | 2,86 |
| C, AMP, AMX, DOX, K | 0 | 2,86 |
| AMP, AMX DOX, K, NA | 4 | 0 |
| AMP, AMX, DOX, SXT, K | 0 | 5,71 |
| AMP, AMX, DOX, NA, CIP | 0 | 2,86 |
| C, AMP, AMX, DOX, SXT, K | 4 | 0 |
| C, AMP, AMX, DOX, K, NA | 0 | 2,86 |
| AMP, AMX, SXT, DOX, K, NA | 4 | 2,85 |
| AMX, DOX,SXT,NA,OF,CIP | 4 | 11,43 |
| C,AMP,AMX, DOX, SXT,K,NA | 0 | 8,57 |
| C,AMP,AMX,SXT,NA,OF,CIP | 0 | 2,86 |
| AMP,AMX, DOX,K,NA,OF,CIP | 0 | 2,85 |
| AMP,AMX, DOX,SXT,K,NA,CIP | 0 | 2,86 |
| AMP,AMX, DOX,SXT,NA,OF,CIP | 28 | 5,71 |
| C,AMP,AMX, DOX, K,NA,OF,CIP | 4 | 0 |
| AMP,AMX, DOX,SXT,K,NA,OF,CIP | 16 | 5,71 |
| C,AMP,AMX, DOX,SXT,GMN,K,NA | 0 | 2,86 |
| C,AMP,AMX, DOX,SXT,K,NA,OF,CIP | 20 | 17,14 |
| C,AMP,AMX, DOX,GMN,K,NA,OF,CIP | 4 | 0 |

II.6. Résultats de l'enquête

II.6.1. Localisation des vétérinaires et taux de retour des questionnaires

Parmi les vétérinaires répondants au questionnaire :

- 19,57% des vétérinaires travaillaient en communes (milieu rural).
- 60,86% des vétérinaires travaillaient en daïras.
- 19,57% des vétérinaires travaillaient en wilayas.

Sur les 108 questionnaires distribués, 46 questionnaires valables ont été retournés, soit un taux de réponse de 42, 59%. Les questionnaires ont été distribués comme suit :

- 52 questionnaires distribués dans la wilaya de Batna dont 30 ont été retournés.
- 30 questionnaires distribués dans la wilaya de Biskra, 9 ont été retournés.
- 26 questionnaires distribués dans la wilaya de Khenchela dont 7 questionnaires ont été récupérés.

II.6.2. Elevages avicoles (type et dominance)

100% des vétérinaires interrogés indiquent que les élevages de poulet de chair présents dans leurs régions sont de nature intensif. 65,22% des vétérinaires déclarent également l'élevage de poulet de chair comme dominant dans les régions de leur activité. Vient ensuite l'élevage de la poule pondeuse, qui est dominant sur 15,22% des régions des vétérinaires participants. Selon certains vétérinaires les élevages dominants sont multiples dans leurs régions. Un pourcentage de dominance de 6,52% pour les élevages "poulet de chair plus dinde", "poule pondeuse plus dinde" et pour les élevages de "poulet de chair plus poule pondeuse plus dinde" a été indiqué dans cette enquête.

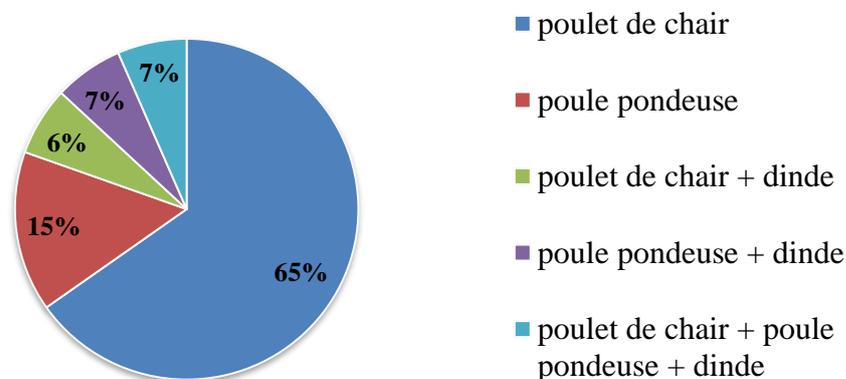


Figure 26 : Elevages dominants dans les régions d'étude.

II.6.3. Normes d'élevage

Un lieu d'installation adapté à l'abri de l'humidité, des vents et de bruit, une isolation thermique de bâtiment, ce sont des facteurs d'importance capitale lors de construction d'un poulailler. D'après notre enquête les normes de construction ne sont respectées que par une minorité des éleveurs. Seulement 8,7% des vétérinaires indiquent le respect des normes de construction des bâtiments d'élevages.

Un autre élément clé pour la réussite d'élevage, c'est le respect des règles d'hygiène dans le poulailler. Le nettoyage et la désinfection régulière de poulaillers sont nécessaires pour réduire les risques de dissémination des pathogènes. Le vide sanitaire qui correspond à la période du grand nettoyage et de décontamination qui précède l'accueil d'une nouvelle bande, est un moyen indispensable pour prévenir les problèmes sanitaire au cours d'élevage. Sur l'ensemble des vétérinaires interrogés, 60,87% indiquent que les règles d'hygiène sont plus ou moins respectées dans les élevages, 32,61% affirment le non respect des règles d'hygiène. Alors que 6,52% signalent le respect des règles fondamentales d'hygiène dans les poulaillers.

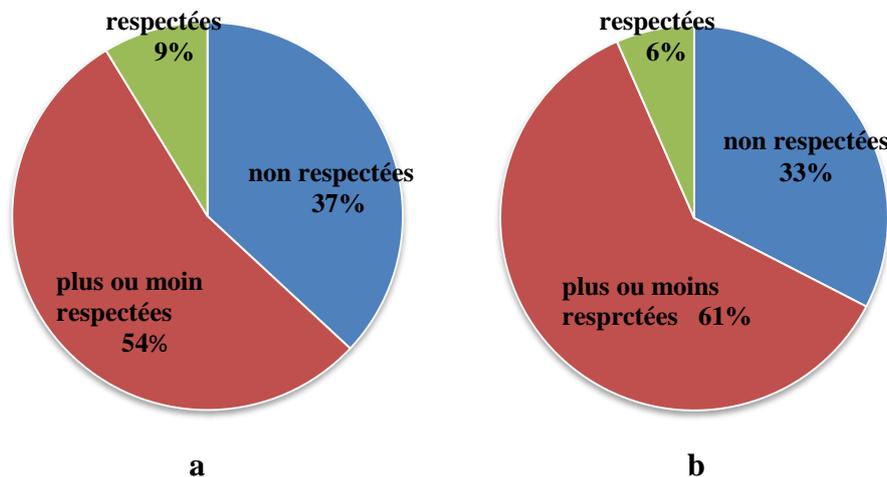


Figure 27 : Normes d'élevage.

a : normes de construction des bâtiments d'élevage, b : règles d'hygiène

II.6.4. Motifs d'emploi des antibiotiques dans les élevages de poulet de chair

La plupart des réponses des vétérinaires interrogés (78,26%) affirment l'emploi préventif d'antibiotiques systématiquement chez le poulet de chair. Les traitements préventifs sont préconisés par les vétérinaires durant les périodes critiques d'élevage notamment : au démarrage, au moment de la vaccination et s'il ya un changement des conditions climatiques. Plusieurs familles d'antibiotiques ont été prescrites par les vétérinaires dans ce cadre, à savoir : les Fluoroquinolones (Enrofloxacin), les Macrolides (Erytromycine, Tylosine), Tétracyclines (Oxytétracycline et Doxycycline), les Polymyxines (Colistine).

54,35% des vétérinaires interrogés utilisent également les sulfamides comme traitement anticoccidien. Par ailleurs 100% des vétérinaires ont été réponsus par l'absence d'utilisation des antibiotiques comme promoteur de croissance.

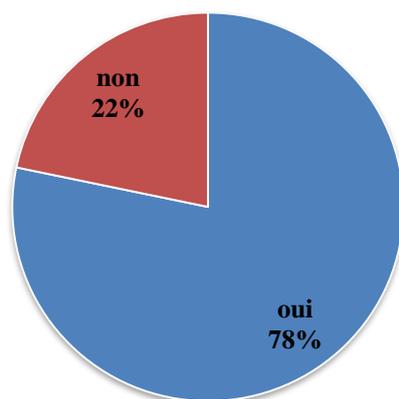


Figure 28 : Utilisation préventive d'antibiotiques.

II.6.5. Fréquence et modalités de prescription des antibiotiques

Parmi les huit familles d'antibiotiques cités, cinq familles sont souvent employées par la majorité des vétérinaires interrogés. L'utilisation de la classe des pénicillines est en recul, elle a été choisie parmi les molécules quelquefois utilisés par plus de la moitié (52,17%) des participants. Les macrolides, les polypeptides et les fluoroquinilones demeurent à la tête des antibiotiques souvent utilisés par les vétérinaires avec des pourcentage respectivement de 97,82% , 95,65% et 95,65% pour l'ensemble des participants. Suivie par les tétracyclines

(91,3%) et l'association Sulfamide-triméthoprimine (84,78%). En revanche 100% des vétérinaires reconnaissent ne jamais utiliser les phénicolés et 89,13% déclaraient ne jamais prescrire des aminosides.

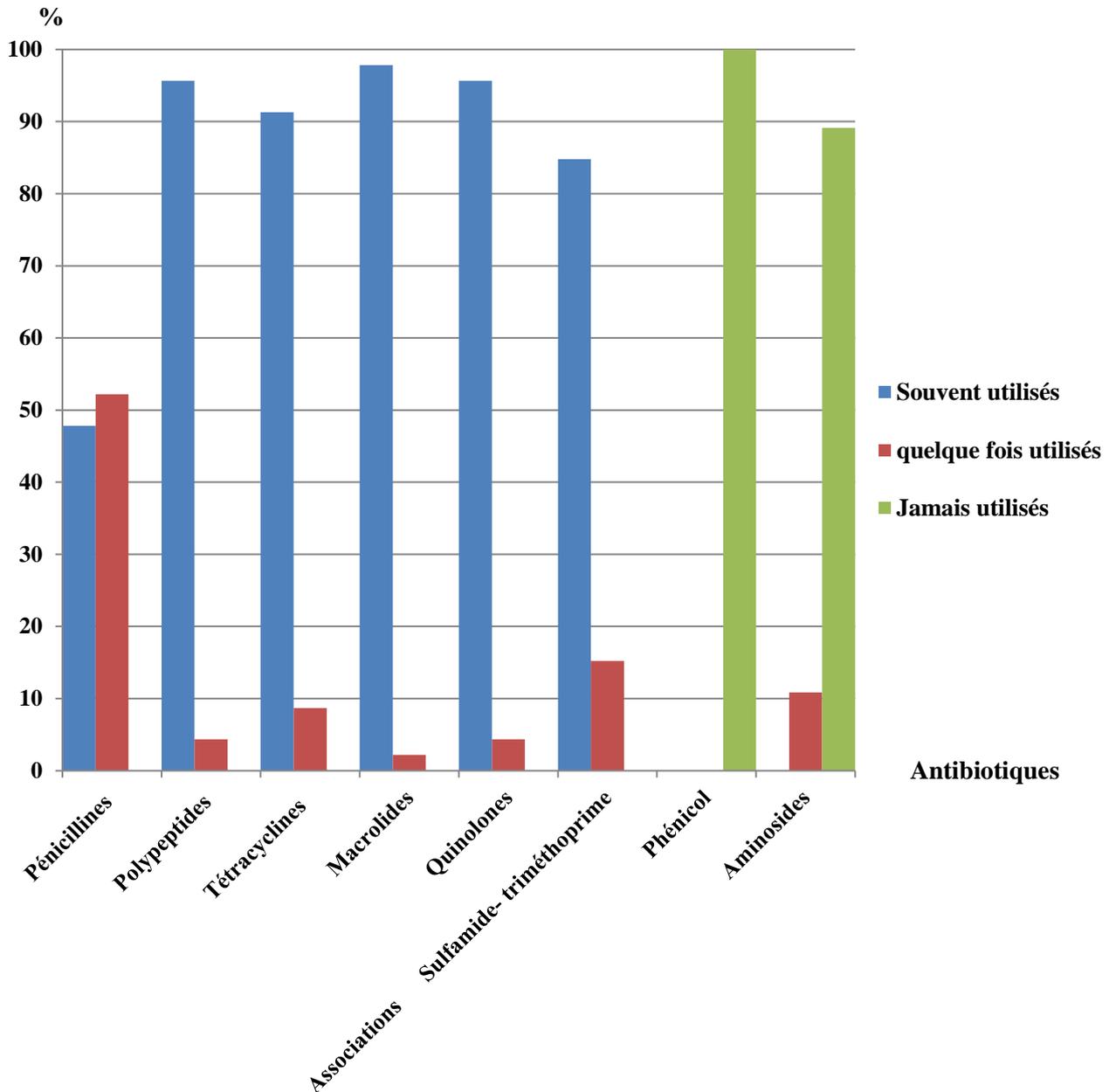


Figure 29 : Fréquence d'utilisation de différentes familles d'antibiotiques.

Dans le but d'augmenter et d'élargir le spectre antibactérien; les antibiotiques sont employés en association. Un pourcentage élevé des vétérinaires interrogés (41,3%), utilisent souvent les antibiotiques en association pour traiter les différentes infections bactérienne déclarées en élevages. À l'inverse, selon le reste des participants, l'utilisation des antibiotiques

en monothérapie est suffisante pour contrôler la plupart des bactéries propagées dans un poulailler.

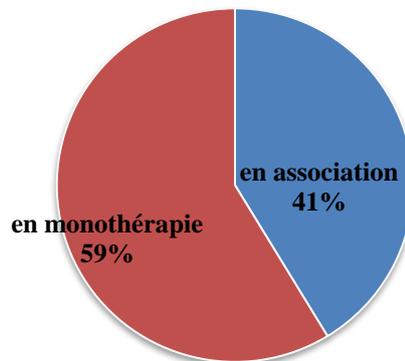


Figure 30 : Modalités de prescription des antibiotiques.

II.6.6. Administration des antibiotiques

Cette enquête montre que la voie orale est la voie unique d'administration des antibiotiques aux oiseaux. En élevage avicole, l'éleveur est chargé à administrer via l'eau de boisson les traitements prescrits par les vétérinaires. En raison du fait que la quasi-totalité des aviculteurs en Algérie n'ont reçu aucune formation dans le domaine d'élevage avicole, les tâches et les responsabilités du vétérinaire a évoluées, il n'est plus seulement chargé de prescrire la molécule la plus adapté, mais d'accompagner l'éleveur à réussir l'opération d'administration d'antibiotique. D'après notre enquête cette opération est supervisée par 41,3% des vétérinaires interrogés. Tandis que 58,7% des vétérinaires laissent cette opération sans contrôle.

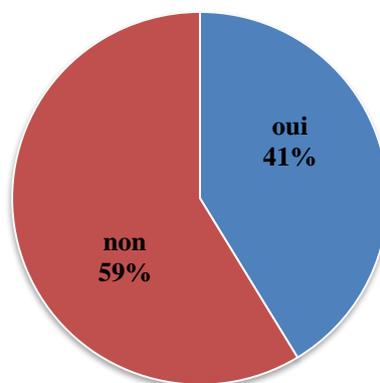


Figure 31 : Supervision de l'opération d'administration des antibiotiques.

II.6.7. Vente d'antibiotiques sans ordonnance

L'Algérie est un pays en développement, les antibiotiques peuvent être obtenus via plusieurs sources notamment par leur disponibilité en vente chez certains vétérinaires, même si cette pratique est illégale. Les résultats de l'enquête révèlent que la moitié des vétérinaires interrogés pratique la vente des antibiotiques sans ordonnance. Cela signifie que certains éleveurs prennent l'initiative d'utiliser les antibiotiques dans les élevages sans avis ou prescription vétérinaire préalable.

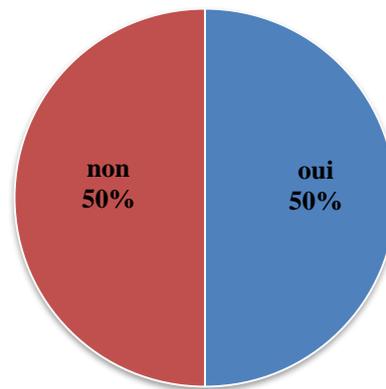


Figure 32 : Pratique de la vente d'antibiotiques sans ordonnance.

II.6.8. Échec d'antibiothérapie et recours à l'antibiogramme

Selon 60,87% des vétérinaires interrogés, le taux d'échec d'antibiotiques prescrits est moyen, alors que 39,13% déclaraient que le taux reste faible. En cas d'échec d'antibiothérapie, 100% des vétérinaires interrogés envisagent un retraitement en antibiotiques sans recours à un antibiogramme préalable.

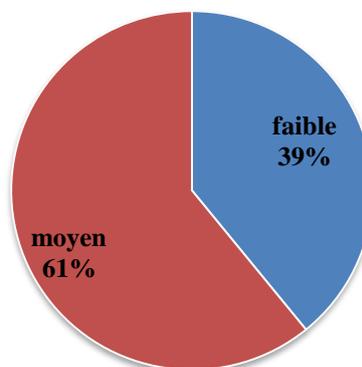


Figure 33 : Taux d'échec d'antibiothérapie.

II.6.9. Situations d'impasse thérapeutique

Les vétérinaires se retrouvent face à une situation d'impasse thérapeutique, lorsque tous les traitements antibiotiques envisageables pour une infection bactérienne déclarée dans un poulailler se sont révélés inefficaces. Selon l'enquête 50% des vétérinaires interrogés ayant rencontré des situations d'impasse thérapeutiques.

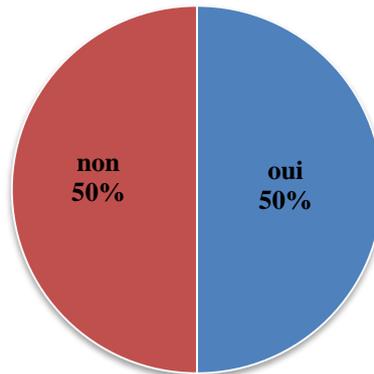


Figure 34 : Rencontre des situations d'impasse thérapeutique.

II.6.10. Durée de traitement

Pour un bon usage d'antibiotique, il faut absolument respecter la durée du traitement. Selon les résultats de l'enquête la durée de traitement n'est pas toujours respectée par les éleveurs. Selon 52,17% des vétérinaires interrogés la durée de traitement est respectée par certains aviculteurs et selon d'autres (4,35% des participants) elle n'a jamais été respectée.

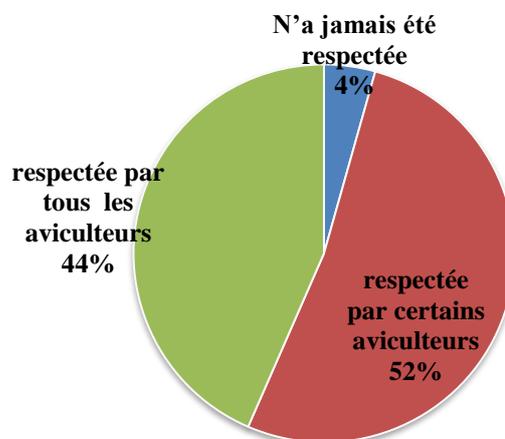


Figure 35 : Respect de la durée de traitement.

II.6.11. Temps d'attente

Pour éviter d'avoir des résidus d'antibiotiques dans la viande des oiseaux, il faut absolument respecter le temps d'attente pour chaque antibiotique. Ce temps indiqué sur l'étiquetage des médicaments, précise la durée nécessaire pour commercialiser une viande issue d'un animal traité. Chaque éleveur est donc responsable de la qualité des poulets qu'il livre à la consommation. D'après 15,22% des vétérinaires participants ce temps n'a jamais été respecté par les éleveurs, tandis que 63,04% d'entre eux indiquent qu'il est respecté par certains aviculteurs.

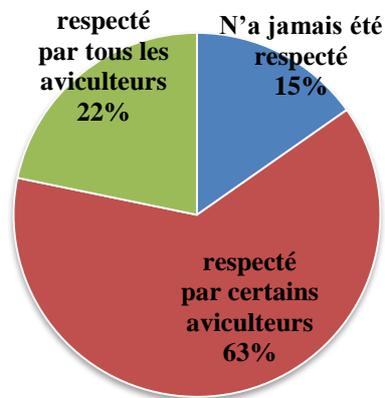


Figure 36 : Respect de temps d'attente.

II.7. Discussion

II.7.1. Caractéristiques des élevages de poulet de chair des régions d'étude

D'après notre enquête, le poulet de chair était la production dominante dans les régions d'étude, et il est fort possible qu'elle pourrait être dominante dans tous le pays. L'essor de la filière du poulet de chair en Algérie peut être expliqué par la nécessité de répondre au déficit en protéines animales que les autres types de viandes ne pouvaient satisfaire.

Les élevages sont de type intensif, les animaux sont confinés dans un espace réduit à forte densité. Selon la majorité des vétérinaires interrogés les normes de construction des bâtiments d'élevage et les règles d'hygiène restent à respecter par les aviculteurs. Juste 6,52% des vétérinaires indiquent le respect correct des règles d'hygiène et 8,7% assurent le respect des normes de construction des bâtiments d'élevage. Ces défaillances dans le respect des normes d'élevages surtout chez le poulet de chair ont été déjà constatées par certains auteurs comme Alloui (2011). La conséquence d'une mauvaise installation et construction d'un bâtiment d'élevage est le dérèglement des paramètres d'ambiances (température, humidité et aération) à l'intérieur de celui-ci. Ces facteurs de risque sont responsables de certaines maladies observées en élevages avicole (Alloui, 2011). Un climat de logement défavorable (excès d'ammoniac ou de poussières), prédispose les volailles à de nombreuses maladies respiratoires telles que la mycoplasmosse, la colibacillose et d'autres maladies virales (Kabir, 2010, Nolan et al., 2013). Par ailleurs la défaillance de l'hygiène en élevage est la cause principale de la dissémination rapide d'agents infectieux qui attaquent les oiseaux. On aura alors une mortalité et un ralentissement de la croissance dû à la présence de la maladie. Par contre une bonne hygiène des logements et une baisse du surpeuplement des oiseaux permettaient de réduire le risque de maladies notamment la colibacillose (Kabir, 2010).

En conséquence, les oiseaux dans les environnements hostiles (dérèglement des facteurs d'ambiance, manque d'hygiène) nécessitent des stratégies de lutte contre les infections agressives, qui incluent principalement l'usage des antibiotiques (Landers et al., 2012).

Le fait que notre étude soit portée sur les élevages du poulet de chair n'est pas un hasard. Les élevages intensifs et plus particulièrement les élevages du poulet de chair sont des

gros consommateurs d'antibiotiques (Rahmatallah et al., 2018). Cette consommation est certainement favorisée par le manque d'application rigoureuse des normes d'élevage.

Enfin l'élevage intensif, non-respect des normes de construction des bâtiments d'élevage et le non-respect des règles d'hygiène sont des paramètres responsables indirectement de l'apparition et la dissémination de la résistance aux antibiotiques.

II.7.2. Isolement et identification biochimique des *E.coli*

Dans l'étape d'isolement on a constaté une différence dans les résultats d'identification entre les premiers prélèvements (cloacaux) et les prélèvements effectués aux abattoirs. Cette différence dans les pourcentages semblerait être due à la différence de qualification des personnes ayant réalisées cette étape, les difficultés connues au début de travail sont rapidement rattrapés dans l'identification de la seconde catégorie de prélèvements.

L'isolement des AFEC n'a été possible que pour 30,86% des prélèvements. Ce pourcentage est relativement faible sachant que *E. coli* est parmi les espèces majoritaires constitutives de la flore digestive des oiseaux (Gabriel et al., 2005) . L'échec de certaines tentatives d'isolement après contamination des cultures, peut se rapporter à l'insuffisance d'application des précautions techniques strictes par certaines personnes ayant réalisées cette opération.

Un pourcentage de 53,85% des isolats APEC obtenus à partir des prélèvements réalisés sur les organes internes (foie, cœur) de poulet de chair après abattage. En effet même si les lésions sont typiques d'une colisepticémie colibacillaire, plusieurs bactéries peuvent produire des lésions identiques à celle des APEC. Les bactéries : *Pasteurella*, *Ornithobacterium*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* peuvent provoqués une septicémie aigue, alors que *Pasteurella multocida*, *Streptococcus spp* et *Enterococcus spp* provoquent des péricardites et des péritonites (Nolan et al., 2015)..

Pour les caractères biochimiques des *E.coli* isolés, ils sont compatibles avec la bibliographie. Les indicateurs caractérisant l'*E.coli* sont la production d'indole et la présence de β galactosidase mais avec présence de certaines exceptions. Les caractères qui sont toujours négatifs : inositol, urée, ADH, TDA, VP, gélatinase, citrate de Simmons. La production de gaz lors de l'attaque du glucose est moins constante (Avril et al., 1992, - Denis et al., 2011).

II.7.3. Discussion relative au sérotypage

Dans notre étude un seul sérotype a été identifié pour les souches APEC (O78) avec un pourcentage de 11,42%. La prédominance du sérotype O78 dans la région de Maghreb a été relevée par plusieurs auteurs tel que Hammoudi et al., 2009, Aggad et al., 2010, Rahmatallah et al., 2017. Un grand nombre d'isolats non typables et absence des sérotypes O1, O2 ont été encore constatés dans cette étude. Contrairement à nos résultats, certains auteurs ont montré l'existence des sérotypes O1 et O2 dans des régions de l'ouest d'Algérie (Hammoudi et al., 2009, Aggad et al., 2010). De plus énormément d'études ont montré la contribution d'un grand nombre de sérogroupes non-typables dans la septicémie colibacillaire (Blanco et al., 1998, Hammoudi et al., 2009, Aggad et al., 2010, Rahmatallah et al., 2017).

II.7.4. Discussion relative à l'association des antibiotiques et l'échec de traitement

Les résultats des antibiogrammes obtenus ont permis de mettre en évidence des niveaux élevés de résistance pour les différentes classes d'antibiotiques utilisées en Algérie. La prescription des antibiotiques en association est parait donc raisonnable. Selon les résultats de l'enquête, 41,3% des vétérinaires interrogés utilisent souvent les antibiotiques en association pour éviter l'échec de l'antibiothérapie. En principe ces associations ne peuvent être employées que c'est le vétérinaire est convaincu qu'une association d'antibiotiques renforce l'efficacité thérapeutique (Gharbi et al., 1999).

L'échec des traitements antibiotiques semble être à un taux moyen selon 60,87% des vétérinaires participants. La survenue d'échec d'antibiothérapie est liée principalement à un choix de molécules inadaptées et l'émergence de germes résistants. D'après 39,13% des interrogés le taux d'échec d'antibiothérapie reste encore faible. Ceci peut être expliqué par le fait que les vétérinaires s'appuient de plus en plus sur le choix de molécules qui présentent peu de résistance bactérienne comme la colistine pour les colibacilles et la tylosine pour les mycoplasmes.

II.7.5. Lien entre l'utilisation des antibiotiques et l'apparition de la résistance

En général, la résistance aux antibiotiques des isolats d'*E.coli* décrits dans cette étude confirme que l'augmentation des résistances bactériennes est en relation avec la fréquence d'utilisation des antibiotiques dans les élevages.

Les antibiotiques largement utilisés présentent les taux de résistances à *E.coli* les plus élevés. En effet, plusieurs recherches ont approuvé ce résultat (Van Den Bogaard et al., 2000, Faye, 2005, Sanders, 2005, Hammoudi et al., 2009).

Les statistiques montrent que les taux de résistance des isolats AFEC sont significativement supérieurs à ceux des APEC pour deux antibiotiques; Ofloxacine et Ampicilline. La sélection de souches bactériennes plus résistantes dans la flore digestive est favorisée par l'administration des antibiotiques par voie orale (Dheilly et al., 2011). Les molécules à administration orale sont les plus utilisées dans les élevages des volailles car elles sont les moins coûteuses (Sanders, 2005).

Des résistances sont constatées pour le Chloramphénicol et la Kanamycine malgré l'absence de leurs utilisations. Une comparaison avec des études antérieures réalisées dans un pays proche (Maroc) a montré que le phénomène de résistance vis-à-vis du Chloramphénicol n'est pas nouveau. En 1988, la résistance atteignait déjà 42 % (Filali et al., 1988). Quelques années après Amara et al., (1995) a avancés un taux de 41% .

Le Chloramphénicol est abandonné en Algérie après son interdiction en Europe. Selon notre enquête, 100% des vétérinaires interrogés confirment l'absence d'utilisation de cet antibiotique chez le poulet de chair. La persistance de la résistance à cette molécule enregistrée dans les années passées pourrait être attribuée au phénomène de co-résistance. Cette dernière est liée au fait que les gènes de résistance au Chloramphénicol et d'autres antibiotiques (Tétracycline, Sulfamide,...) sont portés par le même plasmide d'*E.coli*. L'utilisation de l'un de ces antimicrobiens peut entraîner la sélection de bactéries non seulement résistantes à cette molécule, mais des bactéries résistantes aux autres familles d'antibiotiques. Les gènes de résistance au Chloramphénicol persistent même en absence de l'antibiotique dans l'environnement (Bischoff et al., 2005).

Il est étonnant de retrouver des taux de résistances élevés pour la Kanamycine, cet antibiotique n'était jamais utilisé pour le traitement des volailles en Algérie. Une enquête ou une étude devrait être menée sur ce sujet. Des taux de résistance à la Kanamycine aussi importante encore retrouvé chez les *E.coli* isolées de porc au Vietnam (92,3%) (Nguyen et al., 2000) et au Canada (38%) (Maynard et al., 2003).

Un pourcentage de résistance à bas niveau a été enregistré vis-à-vis de la Gentamycine. Cet antibiotique étant peu, voire plus utilisé chez les volailles dans nos pays. Environ 10% des vétérinaires interrogés utilisent quelquefois la famille des aminosides, le reste des vétérinaires n'a jamais utilisés cette famille d'antibiotique chez le poulet de chair. Un pourcentage de résistance (3 %), presque semblable à celui de cette étude a été mis en évidence par Aggad et al, (2010).

Un pourcentage de résistance de 98,4% à la Doxycycline a été rapporté dans une étude récente sur les APEC au Maroc (Rahmatallah et al., 2017). La résistance à la famille des tétracyclines dépassent les 80% dans plusieurs études sur les APEC (Filali et al., 1988, Hammoudi et al., 2009, Aggad et al., 2010). Des taux élevés de résistance des souches d'*E.coli* vis-à-vis les Tétracyclines sont cités encore chez le porc dans différents pays (Nguyen et al., 2000, Maynard et al., 2003, Boerlin et al., 2005).

La famille des Tétracyclines est la plus consommée en thérapeutique chez l'animal (Faye, 2005). Depuis leur découverte dans les années quarante, cette famille a été utilisées dans la prévention et le traitement des maladies infectieuses, mais elle est employé encore comme promoteurs de croissance. Ces larges applications ont conduit à l'émergence tout aussi rapide des souches bactériennes résistantes à cette famille d'antibiotique (Chopra et al., 2001, Michalova et al., 2004).

La résistance aux pénicillines est généralement assez élevée. Un taux de résistance de 90,1% à l'Amoxicilline a été révélé dernièrement au Maroc par Rahmatallah et al., (2017). Les pénicillines, classe la plus ancienne, selon les vétérinaires interrogés, leur utilisation est devenue moindre par rapport aux autres familles d'antibiotiques réputés en médecine vétérinaire. Ceci peut être rapporté a leur utilisation faible en préventif et son remplacement par les fluoroquinolones. Par ailleurs l'entrée tôt de cette classe d'antibiotique en utilisation lui confère une résistance élevée.

Des pourcentages de résistance aux Sulfamide-trémitoprimé comparables à notre résultat ont été rapportés dans différentes études comme celle de : Aggad et al., (2010), Rahmatallah et al., (2017). Les associations Sulfamide- triméthoprimé sont des antibiotiques à large spectre. Elles sont utilisées chez les volailles dans la prophylaxie et le traitement des infections bactériennes à : *E.coli*, *Haemophilus*, *Pasteurella* et de *Reimerella anatipestifer* chez le canard (Giguère et al., 2013). 54,35% des vétérinaires participants à notre enquête

utilisent également les sulfamides dans le contrôle de la coccidiose. Selon toujours Giguère et al., (2013), la résistance à cette association est plus signalée chez *E.coli* isolé de poulet de chair.

Pour l'Ofloxacin et Ciprofloxacine, il apparaît que la résistance aux fluoroquinolones est en augmentation. Un taux de résistance (45%) des APEC vis avis l'Enrofloxacin, inférieur des résultats obtenus pour la classe des fluoroquinolones a été rapporté sur une étude réalisé en Algérie par Aggad et al. (2010). En Europe, entre 2005 et 2011 l'exposition des volailles aux Fluoroquinolones a augmenté de 62,9 % (Chardonnet al., 2014), ainsi l'usage des fluoroquinolones est favorisé par l'apparition sur le marché des formes génériques (Sanders et al., 2011).

Enfin, la résistance à l'Acide nalidixique est supérieure à celle observée pour l'Ofloxacin et Ciprofloxacine. L'Acide nalidixique, molécule absente dans la gamme des antibiotiques destinés aux animaux de production (CA-SFM, 2017). La résistance à cet antibiotique est considérée comme une première étape dans l'évolution vers la résistance aux Fluoroquinolones. Il recommandé de ne pas prescrire des Fluoroquinolones en présence d'une résistance à l'Acide nalidixique (Batard et al., 2011).

II.7.6. Discussion relative à la multirésistance

En plus de la résistance pour chaque antibiotique, nos résultats indiquent encore que 72% des souches AFEC et 48,57% des isolats APEC sont multirésistants au moins à 7 antibiotiques. En effet la gamme des antibiotiques envisageables pour le traitement des différents dégâts causés par *E.coli* est énormément réduite et nous sommes de plus en plus confrontés à des situations d'impasse thérapeutique. Ces situations ont été rencontrées par 50% des vétérinaires interrogés. Par ailleurs les risques de transférer des bactéries multirésistantes aux humains augmentent considérablement.

Les deux facteurs qui favorisent l'apparition et le développement de la multirésistance sont :

II.7.6.1. L'antibiothérapie du groupe

En filière avicole les antibiotiques sont préconisés pour l'ensemble de l'effectif de la bande sans exclure même les animaux sains. Les traitements sont essentiellement méthaphylactiques, dès l'apparition des signes cliniques chez certains éléments de lot, une antibiothérapie est mise en œuvre pour l'ensemble de l'effectif (anses, 2014). Les traitements

collectifs favorisent les bactéries les plus résistantes au détriment des plus sensibles. Selon Faye, 2005, l'émergence et le développement de la résistance est en fonction de nombre des sujets soignés avec l'antibiotique. Plus ce nombre est élevé et plus le taux de résistance augmente.

Dans un lot de poulet de chair, La dose d'antibiotique à administrer est difficile à déterminer avec précision à cause de l'irrégularité de poids des oiseaux. L'homogénéité en termes de poids est généralement absente dans nos élevages, pour de multiples raisons telle que : conditions de démarrage inadaptées, certains maladies (colibacillose) et les mauvaises conditions d'ambiance et d'isolation. Un sous-dosage de l'antibiotique dans l'eau de boisson suite à une mauvaise évaluation de poids vif des oiseaux peut favoriser la sélection de bactéries résistantes dans l'élevage.

II.7.6.2. L'utilisation inappropriée d'antibiotiques

Il existe toujours une utilisation inappropriée d'antibiotiques dans tous les types d'élevage en Algérie. Les différents usages et comportements inappropriés que nous avons mis en évidence au cours de notre enquête auprès des vétérinaires des régions d'études sont les suivants :

II.7.6.2.1. Utilisation systématique des antibiotiques pour des raisons préventives

Parmi les principales causes de l'antibiorésistance, l'usage abusif d'antibiotiques dans les élevages. Si leur emploi comme promoteur de croissance est arrêté en Algérie, ce qui a été affirmé la totalité des vétérinaires interrogés, l'utilisation pour des raisons préventives reste présente et prioritaire chez la plupart des médecins vétérinaires (78,26%) des régions d'étude.

Les antibiotiques administrés à faibles doses aux animaux est susceptible d'avoir un effet préventif sur certaines infections bactériennes. Mais le risque de sélection des bactéries résistantes est certainement présent chez tous les animaux traités. Les risques associés à l'antibiorésistance apparaissent donc très importants par rapport aux bénéfices de la prophylaxie (Anses, 2014).

Les nouvelles réglementations de parlement européen pour ralentir la propagation de la résistance aux antibiotiques, comprennent l'interdiction de l'utilisation prophylactique d'antibiotiques. Cette nouvelle loi sera mise en application à partir de l'année 2022.

Par ailleurs, on a constaté dans de nombreuses réponses des vétérinaires interrogés, la prescription de l'Enrofloxacin en prophylaxie. Cet antibiotique appartient à la classe des fluoroquinolones. Ces derniers avec les Céphalosporines de troisième et quatrième générations sont considérés comme étant d'importance critique à la fois pour la santé humaine et pour la santé animale. La préservation de leur efficacité est considérée comme une priorité de santé publique. Selon les recommandations de l'Office international des épizooties (OIE) cette classe d'antibiotique ne doit pas être utilisée dans le cadre d'un traitement prophylactique, ou comme traitement de première intention (CGAAER, 2018). Selon Anses, 2014, L'utilisation systématique des fluoroquinolones en prévention chez les poussins de chair au démarrage doit être abandonnée sans délai. Les compréhensions des vétérinaires en matière d'antibiothérapie sont donc incomplètes et témoignent de l'absence d'actualisation des connaissances sur le sujet.

II.7.6.2.2. Délivrance des antibiotiques sans ordonnance

Depuis l'accroissement de phénomène de la résistance aux antibiotiques, les vétérinaires ont été accusés d'être largement responsables de ce problème. La vente des antibiotiques sans ordonnance confirme la responsabilité de la profession vétérinaire dans l'augmentation de la résistance aux antibiotiques.

La pratique de la vente d'antibiotiques sans ordonnance par la moitié des vétérinaires interrogés démontre que le recours aux vétérinaires lors du traitement des animaux n'est pas la règle. Malheureusement l'utilisation des antibiotiques par les éleveurs en automédication est devenue une pratique courante dans nos élevages.

Les risques d'utilisation des antibiotiques sans ordonnance sont nombreux :

- la sur-utilisation des antibiotiques dans l'élevage.
- Mauvais choix concernant l'antibiotique à utiliser.
- mauvaise évaluation des posologies.
- utilisation de molécules altérées suite à un stockage inadéquat.

En conséquence, cet usage illégitime des antibiotiques à l'origine du développement de bactéries résistantes et dangereuses pour la santé humaine et animale.

II.7.6.2.3. Absence de la supervision de l'opération d'administration des antibiotiques

En aviculture, un traitement collectif par voie orale via l'eau de boisson est le plus adapté (anses, 2014). Cependant la fiabilité des traitements antibiotiques administrés par l'eau de boisson implique que les élevages de poulet de chair soient équipés d'un matériel approprié et que les éleveurs maîtrisent les principes de préparation et de distribution d'une solution à base d'antibiotique aux oiseaux. Ce qui n'est pas le cas chez nous en Algérie. L'intervention des vétérinaires pour réussir cette opération est devenue une obligation. Malheureusement 58,7% des vétérinaires interrogés laissent cette opération sans aucune surveillance.

Le vétérinaire doit assurer et vérifier plusieurs choses à la fois lors d'administration des antibiotiques :

- le PVC et les polyéthylènes sont les matériaux qui doivent être utilisés pour la construction de bac d'eau et l'ensemble de l'installation (circuits, canalisation) par ce qu'ils limitent le développement du biofilm.
- la dose d'antibiotique à administrer doit être déterminée avec précision.
- La solution mère doit se préparer tous les jours, afin d'éviter la dégradation de l'antibiotique.
- Pour optimiser la solubilité des antibiotiques, il peut être nécessaire d'utiliser un solubilisant ou un correcteur de pH. : c'est le cas de l'érythromycine et tylosine qui précipitent dans les eaux à pH acide et les tétracyclines qui précipitent dans les eaux basiques (Anderson et McKenzie, 2018).
- Le débit des abreuvoirs doit être optimal, les oiseaux risquent de prendre une dose insuffisante d'antibiotique si le débit est trop faible.
- Certains antibiotiques peuvent être altérés par la présence de certains biocides dans l'eau de boisson.
- Le rinçage systématique des circuits d'eau après chaque traitement permet d'éliminer les dépôts minéraux et le développement d'un biofilm.

En absence d'un suivi vétérinaire strict, l'éleveur peut favoriser la sélection des bactéries résistantes lors d'administration des antibiotiques via l'eau de boisson, suite à :

- Des erreurs de calcul de la dose à administrer. Donc des sur- ou plus souvent des sous-dosages d'antibiotique dans l'eau de boisson.

- Un risque de sous-dosage après précipitation de l'antibiotique dans le bac d'eau ou après développement de biofilm à l'intérieur des canalisations.
- Un risque de persistance des résidus d'antibiotiques dans l'eau de boisson à cause de la libération retardée des doses d'antibiotique précipité. (Anderson et McKenzie, 2018).

II.7.6.2.4. Non recours à l'antibiogramme après l'échec de traitement

L'antibiogramme permet d'orienter le vétérinaire vers l'antibiotique le plus efficace lors du traitement de maladies bactériennes qui apparaissent dans un élevage. Cependant ce test retarde la mise en place d'une antibiothérapie dans les premiers jours de déclaration de la maladie. C'est pourquoi il n'est généralement pas demandé en première intention. Le recours à l'antibiogramme après l'échec de traitement de première intention sera nécessaire si l'on veut limiter le risque de la résistance. En absence d'antibiogramme, les vétérinaires pourraient alors avoir besoin d'essayer plusieurs antibiotiques différents, ce qui peut contribuer au développement de bactéries résistantes. Malheureusement 100% des vétérinaires interrogés ne font pas recours à l'antibiogramme après un échec thérapeutique. Ceci est dû selon certains vétérinaires à l'absence des laboratoires d'analyses vétérinaires dans leurs régions, et pour d'autres au manque de moyens pour la création d'un petit laboratoire dans leurs cabinets.

Dans le cadre de préserver l'efficacité de certains molécules d'antibiotiques et de limiter le développement de l'antibiorésistance, certains pays de l'Union européenne comme la France a rendu obligatoire, la réalisation de l'antibiogramme avant toute prescription d'un antibiotique critique depuis l'année 2016 (CGAAER, 2018).

II.7.6.2.5. Non-respect des conditions d'usage des antibiotiques par les éleveurs

Le moyen le plus efficace pour réduire la résistance est de respecter les conditions d'usage des antibiotiques. La durée du traitement est un critère fondamental à respecter. Malheureusement selon notre enquête elle est moins bien respectée, de nombreux éleveurs, auront tendance à prolonger le temps de traitement pour prévenir les rechutes ou les surinfections. Une autre erreur fréquente chez les éleveurs est de changer trop tôt l'antibiotique sans avoir laissé à celui-ci le temps d'agir. Ce changement rapide est dû à la consultation de plusieurs vétérinaires à la fois. Selon Wolff et Chastre, (2006) une

antibiothérapie trop courte expose à un risque de rechute et d'échec de traitement. A l'inverse une prolongation de la durée de traitement favorise l'apparition de bactéries multirésistantes.

Il est également important de bien respecter le temps d'attente. D'après l'enquête, seulement 21,74% des vétérinaires interrogés indiquent le respect de ce délai par les éleveurs. La présence de résidus d'antibiotiques dans la viande du poulet suite à un abattage avant la fin du délai d'attente, peuvent provoquer chez les consommateurs, des réactions allergiques, des cancers et une résistance aux antibiotiques (Mensah et al., 2014). L'exposition de micro-organismes à de faibles concentrations d'antibiotiques et de métabolites d'antibiotiques, favorise l'émergence des bactéries résistantes dans le tube digestif des consommateurs.

Conclusion & perspectives

Les résultats de notre étude nous donnent un aperçu sur les niveaux élevés de résistance d'*E.coli* d'origine aviaire vers les différentes familles d'antibiotiques et permet de décrire les liens existants entre ces niveaux élevés de résistance et les pratiques à risque recensées au sein des élevages de poulet de chair.

En réalité, les facteurs qui sont à l'origine de l'aggravation du phénomène de la résistance aux antibiotiques dans notre pays sont multiples et complexes. Cependant dans le secteur de la santé animale, ils peuvent être assemblés dans les pratiques des vétérinaires et le comportement des éleveurs envers l'utilisation des antibiotiques en élevage.

La mauvaise utilisation des antibiotiques par les éleveurs est facilitée par leurs disponibilités en vente sans ordonnance chez les vétérinaires. L'utilisation des antibiotiques par les éleveurs en automédication est devenue une pratique courante dans notre pays.

La prescription vétérinaire des antibiotiques peut également être inadaptée par manque des laboratoires d'analyses qui fournies des examens bactériologiques et des antibiogrammes.

La livraison par les éleveurs des produits sans respecter le délai d'attente des antibiotiques est favorisée par l'absence d'une politique rigoureuse de contrôle de la qualité qui comprend le dépistage des résidus d'antibiotiques.

Un autre aspect des facteurs qui peuvent aggravés le phénomène de l'antibiorésistance, c'est la mauvaise diffusion des informations de recherche. Les vétérinaires de notre pays manquent parfois de recevoir les dernières informations sur la résistance et les nouveaux protocoles adoptés en termes d'utilisation des antibiotiques.

Face à cette situation inquiétante, il est obligatoire de mettre fin aux pratiques à risque en matière d'utilisation des antibiotiques en élevage par la fourniture des solutions adaptées aux problèmes qui sont cachés derrières. De l'autre coté il est indispensable de réduire de manière drastique l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire en privilégiant le perfectionnement des conduites d'élevage. Ceci comprend le respect des normes de construction des bâtiments d'élevage, le respect des règles d'hygiène et la durée de vide sanitaire, une diminution du surpeuplement et la densité en encourageant l'élevage biologique. L'ensemble de ces mesures préventives a pour but de maintenir l'efficacité des antibiotiques et pour réserver leur utilisation aux situations les plus sévères.

En parallèle la recherche des alternatifs au-delà des antibiotiques est l'objectif futur de la médecine moderne. L'utilisation des huiles essentiels extraites des plantes médicinales des différentes régions d'Algérie comme antibactérien est l'une des pistes prometteuses.

Références bibliographiques

- AFSSA, 2006. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Maisons-Alfort : AFSSA, 214 pages. Disponible en ligne sur : <https://www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-ABR.pdf>.
- Aggad H., Ammar Y A., Hammoudi A., Kihal M., 2010. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens with colibacillosis. *Glob. Vet*, 4(3), 303-306.
- Alloui N., 2011. Situation actuelle et perspectives de modernisation de la filière avicole en Algérie. *Neuvièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 29 et 30 mars*.
- Amara A., Ziani Z., Bouzoubaa K., 1995. Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. *Veterinary microbiology*, 43(4), 325-330.
- Anderson J., McKenzie S., 2018. pH and the Solubility of Antimicrobials in Drinking Water. MWI animal health Amerisource Bergen. *Published swine outlook*.
- Anses, 2014. Evaluation des risques d'émergence d'antibiorésistance liés aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale. Avis de l'Anses Rapport d'expertise collective. Maisons-Alfort : Anses, avril 2014, 240 pages. Disponible sur : <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2011sa0071Ra.pdf>.
- Avril J L., Dabernat H., Denis F., Monteil H., 1992. Bactériologie clinique 2^{ème} édition.
- Balikó G., VERNYIK, V., KARCAGI, I., GYÖRFY, Z., DRASKOVITS, G., FEHÉR, T., PÓSFAI, G., 2018. Rational efforts to streamline the *Escherichia coli* genome. *Synthetic Biology: Parts, Devices and Applications*, 49-80.
- Batard E., Montassier E., Ballereau F., Potel, G., 2012. De la consommation d'antibiotiques aux résistances bactériennes: l'exemple de la résistance d'*Escherichia coli* aux quinolones. *Médecine thérapeutique*, 17(4), 294-301.
- Bertani B et Ruiz N., 2018. Function and biogenesis of lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*, 8(1).
- Bischoff K M., White D G., Hume M E., Poole T L., Nisbet D J., 2005. The chloramphenicol resistance gene *cmlA* is disseminated on transferable plasmids that confer multiple-drug resistance in swine *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*, 243(1), 285-291.
- Blanco J., Blanco M., Alonso M P., Blanco J E., Garabal J., González, E A., 1992. Serogroups of *Escherichia coli* strains producing cytotoxic necrotizing factors CNF1 and CNF2. *FEMS microbiology letters*, 96(2-3), 155-160.
- Blanco J E., Blanco M., Mora A., Jansen W H., García V., Vázquez M. L., Blanco J., 1998. Serotypes of *Escherichia coli* isolated from septicaemic chickens in Galicia (northwest Spain). *Veterinary microbiology*, 61(3), 229-235.
- Boerlin P., Travis R., Gyles C L., Reid-Smith R., Lim N J H., Nicholson V., Archambault M., 2005. Antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from swine in Ontario. *Applied and environmental microbiology*, 71(11), 6753-6761.

- Boerlin P., White, D G., 2013. Antimicrobial resistance and its epidemiology. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*, 4, 27-43.
- Boudergue C., Dunoyer C., Granier S., 2013. Les pratiques à risques en médecine vétérinaire. Anses – Les Cahiers de la Recherche N° 3 - Santé, Environnement, Travail.
- Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa A., Charfi S., Dakka N., 2017. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- Carle, S., 2009. La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important !. *pharmactuel*, 42.
- CA-SFM., 2017. AntibioGramme vétérinaire du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. www.sfm-microbiologie.org.
- CASFM/ EUCAST., 2017. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. www.sfm-microbiologie.org.
- CGAAER (conseil général de l'alimentation et l'agriculture et des espaces ruraux) ministère de l'agriculture et de l'alimentation, république française. 2018. Étude d'impact des mesures législatives et réglementaires issues de la loi d'avenir pour l'alimentation, l'agriculture et la forêt, concernant la prescription vétérinaire des antibiotiques critiques. Rapport n° 17057, 59 pages. Disponible sur : https://www.anses.fr/fr/system/files/cgaaer_17057_2018_rapport.pdf.
- Chardon, H., Brugere, H., 2014. Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. *Cahiers Sécurité Sanitaire Santé Animale du Centre d'Information des Viandes*.
- Chopra I., Roberts M., 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65(2), 232-260.
- Coleman J P., Jeffrey Smith., 2007. Structure and Composition of Microbes. *Elsevier*.
- Corpet D E., 2000. Mécanismes de la promotion de croissance des animaux par les additifs alimentaires antibiotiques [Mechanism of antimicrobial growth promoters used in animal feed]. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 151(2), 99-104.
- Courvalin P., 2008. La résistance des bactéries aux antibiotiques: Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*.
- Cummins M L., Reid C J., Chowdhury P R., Bushell R N., Esbert N., Tivendale K A., Markham P F., 2019. Whole genome sequence analysis of Australian avian pathogenic *Escherichia coli* that carry the class 1 integrase gene. *Microbial genomics*, 5(2).

- Cunha M P V., Saidenberg A B., Moreno A M., Ferreira A J P., Vieira M A M., Gomes T A T., Knöbl T., 2017. Pandemic extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) clonal group O6-B2-ST73 as a cause of avian colibacillosis in Brazil. *PLoS One*, 12(6).
- Cusack T P., Ashley E A., Ling C L., Roberts T., Turner P., Wangrangsimakul T., Dance D A B., 2019. Time to switch from CLSI to EUCAST? A Southeast Asian perspective. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(7), 782-785.
- De Carli S., Ikuta N., Lehmann F K M., da Silveira V P., Melo Predebon G., Fonseca A S K., Lunge, V R., 2015. Virulence gene content in *Escherichia coli* isolates from poultry flocks with clinical signs of colibacillosis in Brazil. *Poultry science*, 94(11), 2635-2640.
- Delarras C., 2010. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux.
- Denis F., Ploy M C., Martin C., Bingen E., Quentin R., 2011. Bactériologie médicale: Techniques usuelles. 2^{ème} édition. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson.
- Dheilly A., Devendec L L., Hellard G., Balan O., Amelot M., Kempf I., 2011. ANR project" EVALU-FQ-VOL": impact of antimicrobial treatments on the susceptibility of bacteria of the digestive tract of chickens. 9^{ème} Journées de la Recherche Avicole, Tours, France, 29-30 Mars, 2011.
- Dho-moulin M., Fairbrother J M., 1999. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary Research*, 30,299-316.
- Dobrindt U., Hochhut B., Hentschel U., Hacker J., 2004. Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. *Nature Reviews Microbiology*, 2, 414-424.
- Dobrindt U., 2005. (Patho-)Genomics of *Escherichia coli*. *International Journal of Medical Microbiology*. 295, 357–371.
- Doublet B., Bousquet-Mélou A., Madec J Y., 2012. Le concept «One Health» en antibiorésistance et les flux de gènes. *Innovations agronomiques*, 24, 79-90.
- Duriez P., Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E., Chaventre A., Elion J., Denamur E., 2001. Commensal *Escherichia coli* isolates are phylogenetically distributed among geographically distinct human populations. *Microbiology*, 147(6), 1671-1676.
- Elgroud R., Zerdoumi F., Benazzouz M., Bouzitouna C., Granier S., Brisabois A., Dufour B., Millemann Y., 2008. Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques dans les élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 37-48.
- Faner R., Sibila O., Agustí A., Bernasconi E., Chalmers J D., Huffnagle G B., Manichanh C., Molyneaux P L., Paredes R., Brocal V P., Ponomarenko J., Sethi S., Dorca J., Monsó E., 2017. The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *European Respiratory Journal*, 49(4), 1602086.
- Faye K., 2005. Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques: impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. *Antibiotiques*, 7(1), 45-52.

- Filali E., Bell J G., El Houadfi M., Huggins M B., Cook J K A., 1988. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticaemia in Morocco. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 11(2), 121-124.
- Gabriel I., Mallet S., Sibille P., 2005. La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *INRA Productions Animales*, 18(5), 309-322.
- Gnanou J C., Sanders P., 2000. Résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale: recommandations pour une surveillance harmonisée en Europe. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 30, s164-s172.
- Ge X Z., Jiang J., Pan Z., Hu, L., Wang S., Wang H., Fan H., 2014. Comparative genomic analysis shows that avian pathogenic *Escherichia coli* isolate IMT5155 (O2: K1: H5; ST complex 95, ST140) shares close relationship with ST95 APEC O1: K1 and human ExPEC O18: K1 strains. *PLoS One*, 9(11).
- Giguère S., Prescott J F., Dowling P M., 2013. Antimicrobial therapy in veterinary medicine 5th edition, Wiley-Blackwell.
- Gonzalez-Alba J M., Baquero F., Cantón R., Galán J C., 2019. Stratified reconstruction of ancestral *Escherichia coli* diversification. *BMC Genomics*, 20 (1), 936.
- Grasselli E., François P., Gutacker M., Gettler B., Benagli C., Convert M., Piffaretti J C., 2008. Evidence of horizontal gene transfer between human and animal commensal *Escherichia coli* strains identified by microarray. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 53(3), 351-358.
- Gharbi M., Messadi L., Benzarti M., Bouzghaia H., 1999. Utilisation des antibiotiques chez les animaux de rente. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 76(1-4), 3-10.
- Guabiraba R, Schouler C., 2015. Avian colibacillosis: still many black holes. *FEMS microbiology letters*, 362(15).
- Guillot J F., Lafont, J P., 1989. Antibiotiques et microflore intestinale. *Revue Scientifique et Technique (international Office of Epizootics)*, 8(8), 439-452.
- Guinée P A M., Agterberg C M., Jansen W H., 1972. *Escherichia coli* O antigen typing by means of a mechanized microtechnique. *Applied microbiology*, 24(1), 127-131.
- Hallstrom K N., McCormick B A., 2015. Pathogenicity islands: origins, structure, and roles in bacterial pathogenesis. *Molecular Medical Microbiology*. Academic Press, 303-314.
- Hammoudi A., Mouats A., Halbouche M., 2009. Sérotypes, antibiorésistance et identification de gènes de virulence des *Escherichia coli* pathogènes dans les élevages avicoles en Algérie. 1ères JER GAL. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 40-47.
- Hart, T., Shears, P., 1997. *Atlas de Poche de Microbiologie*, Flammarion Médecine-Sciences, 1997: *Atlas de Poche de Microbiologie*. Bukupedia.

- Hejnova J., Dobrindt, U., Nemcova, R., Rusniok, C., Bomba, A., Frangeul, L., Buchrieser, C., 2005. Characterization of the flexible genome complement of the commensal *Escherichia coli* strain A0 34/86 (O83: K24: H31). *Microbiology*, 151(2), 385-398.
- Hufnagel D A., Depas X H., Chapman M R., 2015. The biology of the *Escherichia coli* extracellular matrix, *Microbial Biofilms*, 249-267.
- Jehl F., Schramm F., 2013. Implications pratiques des changements de seuils de sensibilité aux bêta-lactamines des entérobactéries. *Réanimation*, 22(2), 365-373.
- Johnson T J., Wannemuehler Y., Johnson S J., Stell A L., Doetkott C., Johnson J R., Nolan L K., 2008. Comparison of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains from human and avian sources reveals a mixed subset representing potential zoonotic pathogens. *Applied and environmental microbiology*, 74(22), 7043-7050.
- Juhas M., van der Meer JR., Gaillard M., Harding RM., Hood DW., Crook DW., 2008. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. *FEMS microbiology reviews*, 33(2), 376-393.
- Kabir S M., 2010. Avian colibacillosis and salmonellosis: a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *International journal of environmental research and public health*, 7(1), 89-114.
- Kapoor G., Saigal S., Elongavan A., 2017. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 33(3), 300.
- Kaas R S., Friis C., Ussery D W., Aarestrup F M., 2012. Estimating variation within the genes and inferring the phylogeny of 186 sequenced diverse *Escherichia coli* genomes. *BMC genomics*, 13(1), 1-13.
- Klemm P., 1985. Fimbriae Adhesins of *Escherichia coli*. *Reviews of infectious diseases*, 7(3), 321-340.
- Köhler C D., Dobrindt, U., 2011. What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*?. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(8), 642-647.
- Kon, K., Rai M., 2016. Antibiotic Resistance: Mechanisms and new antimicrobial approaches. *Academic press*.
- Kunert Filho H C., Brito K C T., Cavalli L S., Brito B G., 2015. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)-an update on the control. *The battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educational programs*, 2, 598-618.
- Landers T F., Cohen B., Wittum T E., Larson, E L., 2012. A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. *Public health reports*, 127(1), 4-22.
- LeStrange K., Markland S M., Hoover D G., Sharma M., Kniel K E., 2017. An evaluation of the virulence and adherence properties of avian pathogenic *Escherichia coli*. *One Health*, 4, 22-26.

- Liu D., 2014. *Escherichia coli*, Reference Module in Biomedical Research. Antão E M., Wieler H L., and Ewers C., 2009. Adhesive threads of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Pathogens*, 1(1), 22.
- Liu Dongyou., 2015. Superficial Gastrointestinal Infections: A Clinical Overview *In* Molecular Medical Microbiology, 1127- 1131.
- Lozniewski A., Rabaud C., 2010. Résistance aux antibiotiques. *CCLIN Sud-Est*.
- Macvanin M., Adhya S., 2012. Architectural organization in *E. coli* nucleoid. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1819 (7), 830–835.
- Mainil J., 2003. Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli* : I) les adhésines et facteurs de colonisation. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 105-126.
- Martin N., Mousset B., Duprez J N., Grégoire F., Hoyoux A., Linden A., Mainil J., 2007. Profils de résistance aux antibiotiques de souches d'*Enterococcus sp* et d'*Escherichia coli* isolées dans les matières fécales de sangliers et cervidés sauvages. *In Annales de Médecine Vétérinaire*, 151, 55-60.
- Maynard C., Fairbrother J M., Bekal S., Sanschagrin F., Levesque R C., Brousseau R., Harel J., 2003. Antimicrobial resistance genes in enterotoxigenic *Escherichia coli* O149: K91 isolates obtained over a 23-year period from pigs. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(10), 3214-3221.
- Mellata M., 2013. Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. *Foodborne pathogens and disease*, 10(11), 916-932.
- Mensah S E P., Koudandé O D., Sanders P., Laurentie M., Mensah G A., Abiola F A., 2014. Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique: risques de santé publique. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 33(3), 1-27.
- Michalova E., Novotna P., Schlegelova J., 2004. Tetracyclines in veterinary medicine and bacterial resistance to them. A review. *Veterinarni Medicina-UZPI (Czech Republic)*.
- Minvielle, B., Ellouze, M., 2010. Résidus de médicaments vétérinaires et antibiorésistance liés à la consommation de viande de porc. *Ifip institut de porc*, rapport d'étude.
- Muylaert A., Mainil J., 2013. Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur" contagiosité". *In Annales de Médecine vétérinaire*, 156, 109-123.
- Nguyen N H., Tô M C., Carles M., Tripodi A., Bodin G., 2000. Etude de 91 souches d'*Escherichia coli* responsables de la maladie de l'œdème du porcelet dans le sud du Viet Nam. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 151(1), 23-32.
- Nolan L K., Barnes H J., Vaillancourt J P., Abdul-Aziz T., Logue C M., 2013. Colibacillosis *In Diseases Of Poultry*, 13th edition, wiley-blackwell, 751-805.

- Nolan L K., Barnes H J., Abdul-Aziz T A., Logue C M., Vaillancourt J P., 2015, colibacillose
In Manuel de pathologie aviaire, Edition AFAS, 300- 316.
- Pagès J M., Garnotel E., 2003. Perméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à gram négatif. *Revue française des laboratoires*. 352, 57-63.
- Paixão A C., Ferreira A C., Fontes M., Themudo P., Albuquerque T., Soares M C., Sá M C., 2016. Detection of virulence-associated genes in pathogenic and commensal avian *Escherichia coli* isolates. *Poultry science*, 95(7), 1646-1652.
- Percival S L., Williams D W., 2014. *Escherichia coli*. *In Microbiology of waterborne diseases*, Academic Press, 89-117.
- Postow L, Hardy C D, Arsuaga J, Cozzarelli N R., 2004. Topological domain structure of the *Escherichia coli* chromosome. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 18, 1766-1779.
- Prescott L M., Harley, J P., Klein, D A., Willey J M., Sherwood L M., Woolverton C J., 2010. Microbiologie. 3^{ème} éd. Bruxelles: De Boeck, 1142.
- Rahmatallah N., Nassik S., El Rhaffouli H., Amine I L., El Houadfi M., 2017. Détection de souches multi-résistantes d'*Escherichia coli* d'origine aviaire dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 5(2).
- Rahmatallah N., El Rhaffouli H., Lahlou Amine I., Sekhsokh Y., Fassi Fihri O., El Houadfi M., 2018. Consumption of antibacterial molecules in broiler production in Morocco. *Veterinary medicine and science*, 4(2), 80-90.
- Raetz C R H., Whitfield C., 2002. Lipopolysaccharide Endotoxins. *Annual review of biochemistry*, 71(1), 635-700.
- Reygaert, W C., 2018. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS microbiology*, 4(3), 482.
- Robineau B., Moalic P Y., 2010. Une maladie d'actualité en production aviaire: la colibacillose. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.
- Rubin J E., 2013. Antimicrobial susceptibility testing methods and interpretation of results. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 11-20.
- Sanders, P., 2005. L'antibiorésistance en médecine vétérinaire: enjeux de santé publique et de santé animale. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*.
- Sanders P., Bousquet-Mélou A., Chauvin C., Toutain, P L., 2011. Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRA Production. Animale*, 24 (2), 199-204.
- Sarowska J., Futoma-Koloch B., Jama-Kmiecik A., Frej-Madrzak M., Ksiazczyk M., Bugla-Ploskonska G., Choroszy-Krol, I., 2019. Virulence factors, prevalence and potential

- transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut pathogens*, 11(1), 10.
- Schwarz S., Cavaco L M., Shen J., 2018. Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals. John Wiley & Sons.
- Smith-Keary P F., 1988. Genetic Elements in *Escherichia coli*. First published, Macmillan International Higher Education.
- Stenutz R., Weintraub A., Widmalm G., 2006. The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. *FEMS microbiology reviews*, 30(3), 382-403.
- Stordeur P., Mainil J., 2002. La colibacillose aviaire. *Ann. Méd. Vét.*, , 146, 11-18.
- Tenaillon O., Skurnik D., Picard B., Denamur E., 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 8(3), 207-217.
- Van den Bogaard A E., Stobberingh E E., 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics: links between animals and humans. *International journal of antimicrobial agents*, 14(4), 327-335.
- Van Vuuren M., 2001. Résistance aux antibiotiques, notamment en aviculture. In *Conférence OIE*, 123-134.
- Wolff M., Chastre J., 2006. Durée de l'antibiothérapie des infections sévères en réanimation. *Réanimation*, 15(3), 168-175.
- Wurpel D J., Beatson S A., Totsika M., Petty N K., Schembri M A., 2013. Chaperone-Usher Fimbriae of *Escherichia coli*. *PLoS ONE* 8(1), e52835.

Annexes

Annexe 1 : Identification, sérotypage, antibiogramme des *E.coli*.



Ensemencement sur bouillon nutritif



Culture sur hektoen et MacConkey.

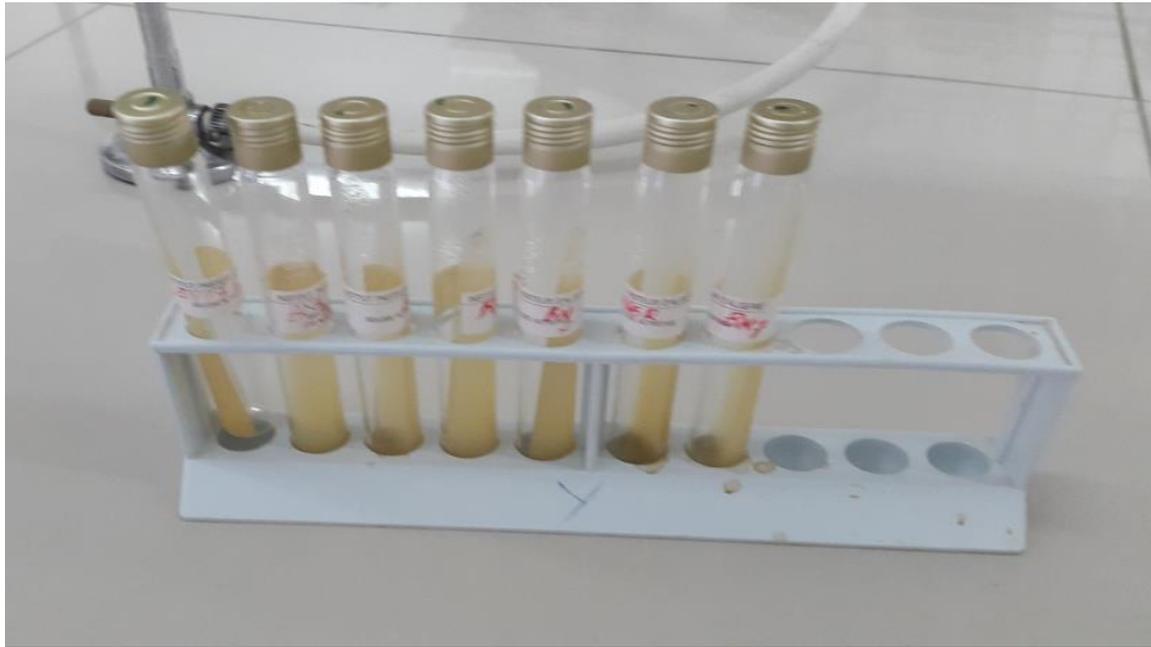


Test TSI

:

| | |
|--|---|
|  | <p>1044572 identification acceptable 86,2%</p> |
|  | <p>5044572 excellente identification 99,8%</p> |
|  | <p>5044522 excellente identification 99,88 %</p> |
|  | <p>5144552 excellente identification 99,9%</p> |
|  | <p>5144572 très bonne identification 99,5%</p> |

Galeries biochimiques



Conservation des souches d'E.coli sur la gélose nutritive



Sérotypage



Antibiogramme

Annexe 2 : Résultats d'antibiogramme

Nombre de souches APEC résistantes, sensibles et intermédiaires et leurs taux de résistance aux antibiotiques

| | C, 30 µg | AMP, 10 µg | AMX, 25 µg | DOX, 30 µg | SXT, 1,25/23,75 µg | GMN, 10 µg | K, 30 µg | NA, 30 µg | OF, 5 µg | CIP, 5 µg |
|---|--------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Nombre de souches résistantes | 15 | 24 | 31 | 34 | 26 | 1 | 24 | 29 | 16 | 18 |
| Nombre de souches sensibles | 20 | 11 | 4 | 1 | 9 | 34 | 11 | 5 | 18 | 14 |
| Nombre de souches intermédiaires | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| % résistance | 42,85 | 68,57 | 88,57 | 97,14 | 74,28 | 2,85 | 68,57 | 82,85 | 45,71 | 51,42 |

Nombre de souches AFEC résistantes, sensibles et intermédiaires et leurs taux de résistance aux antibiotiques

| | C, 30 µg | AMP, 10 µg | AMX, 25 µg | DOX, 30 µg | SXT, 1,25 /23,75 µg | GMN, 10 µg | K, 30 µg | NA, 30 µg | OF, 5 µg | CIP, 5 µg |
|---|-------------|---------------|---------------|---------------|------------------------|---------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| Nombre de souches résistantes | 8 | 24 | 23 | 25 | 21 | 1 | 15 | 22 | 19 | 19 |
| Nombre de souches sensibles | 17 | 1 | 2 | 0 | 4 | 24 | 10 | 1 | 6 | 5 |
| Nombre de souches intermédiaires | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| % résistance | 32 | 96 | 92 | 100 | 84 | 4 | 60 | 88 | 76 | 76 |

Nombre globale de souches résistantes, sensibles et intermédiaires et leurs taux de résistance aux antibiotiques

| | C, 30 µg | AMP, 10 µg | AMX, 25 µg | DOX, 30 µg | SXT, 1,25/23,75 µg | GMN, 10 µg | K, 30 µg | NA, 30 µg | OF, 5 µg | CIP, 5 µg |
|---|--------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------|---------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Nombre de souches résistantes | 23 | 48 | 54 | 59 | 47 | 2 | 39 | 51 | 35 | 37 |
| Nombre de souches sensibles | 37 | 12 | 6 | 1 | 13 | 58 | 21 | 6 | 24 | 19 |
| Nombre de souches intermédiaires | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 4 |
| % total de résistance | 38,33 | 80 | 90 | 98,33 | 78,33 | 3,33 | 65 | 85 | 58,33 | 61,66 |

Annexe 3 :

Questionnaire destiné aux vétérinaires

Intitulé : étude des facteurs de risque lié à l'utilisation des antibiotiques en élevages de poulet de chair

Docteur,

Je tiens à vous remercier par avance de remplir ce questionnaire qui va m'aider à avancer dans ma thèse de doctorat. Veuillez répondre aux questions ci-dessous en fonction de ce que vous faites réellement. Toutes les questions concernant l'élevage de poulet de chair sauf la première question. Cette dernière a été posé de savoir quel est l'élevage ou les élevages avicoles dominants dans votre région.

Informations générales

Nature d'établissement : Cabinet vétérinaire Clinique vétérinaire

Commune :

Daira :

Wilaya :

1. L'élevage (s) dominant (s) dans la région :

Poulet de chair Poule pondeuse Dindes Caille D'autre

2. Le (s) type(s) d'élevage (s) de poulet de chair présent (s) dans la région :

Intensif Libre

3. Les normes de construction des bâtiments d'élevage sont généralement :

Respectées plus ou moins respectées non respectées

4. Les règles d'hygiène sont généralement :

Respectées plus ou moins respectées non respectées

5. Les antibiotiques sont ils utilisés comme des additifs alimentaires (facteurs de croissance) ?

Oui Non

Vous utilisez des antibiotiques à titre préventif systématiquement ?

Oui

Non

6. Si oui, lesquels, et dans quelle(s) indication(s) ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

7. Vous utilisez les sulfamides comme un traitement anticoccidien ?

Oui

Non

8. Quels sont les antibiotiques que vous prescrivez souvent, quelque fois ou jamais ?

| Antibiotiques | Souvent utilisés | quelque fois utilisés | Jamais utilisés |
|--------------------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|
| Pénicillines (bêta-lactamines) | | | |
| Polypeptides | | | |
| Tétracyclines | | | |
| Macrolides | | | |
| Phénicol | | | |
| Aminosides | | | |
| Quinolones | | | |
| Associations Sulfamide-triméthoprine | | | |

9. Vous prescrivez le plus souvent les antibiotiques :

En monothérapie

En association

10. Quelle est la voie choisie lors d'administration des antibiotiques ?

Voie orale

Voie intramusculaire

Autres voies

11. Vous supervisez l'opération d'administration des antibiotiques aux oiseaux ?

Oui

Non

12. Vous vendez les antibiotiques sans ordonnance ?

Oui

Non

13. Selon vous le taux d'échec d'antibiothérapie est :

Faible

Moyen

Fort

14. Avez-vous recours à l'antibiogramme après l'échec de traitement ?

Oui

Non

15. Si non pourquoi :

.....
.....
.....
.....
.....

16. Avez-vous rencontré des situations d'impasse thérapeutique ?

Oui

Non

17. A votre avis la durée de traitement :

Est respectée par tous
les aviculteurs

Est respectée par certains
aviculteurs

N'a jamais été respectée

18. D'après vous le temps d'attente des antibiotiques :

Est respecté par tous
les aviculteurs

Est respecté par certains
aviculteurs

N'a jamais été respecté

Merci pour votre collaboration

Annexe 4 : Synthèse des réponses des vétérinaires aux questionnaires

Élevages dominants dans les régions d'étude

| Poulet de chair | Poule pondeuse | Poulet de chair + Dinde | Poule pondeuse + Dinde | Poulet de chair + Poule pondeuse + Dinde |
|-----------------|----------------|-------------------------|------------------------|--|
| 30 | 07 | 03 | 03 | 03 |

Normes de construction des bâtiments d'élevage & règles d'hygiène

| | Normes de construction des bâtiments d'élevage | règles d'hygiène |
|--------------------------|--|------------------|
| Non respectées | 17 | 15 |
| Plus ou moins respectées | 25 | 28 |
| respectées | 04 | 03 |

Fréquence d'utilisation des différentes familles d'antibiotiques

| Antibiotiques | Souvent utilisés | quelque fois utilisés | Jamais utilisés |
|--------------------------------------|------------------|-----------------------|-----------------|
| Pénicillines (bêta-lactamines) | 22 | 24 | 0 |
| Polypeptides | 44 | 2 | 0 |
| Tétracyclines | 42 | 4 | 0 |
| Macrolides | 45 | 1 | 0 |
| Phénicol | 44 | 2 | 0 |
| Aminosides | 39 | 7 | 0 |
| Quinolones | 0 | 0 | 46 |
| Associations Sulfamide-triméthoprime | 0 | 5 | 41 |

Utilisation préventive d'antibiotiques

Oui : 36 / Non : 10

Prescription des antibiotiques

En association : 19 / En monothérapie : 27

Supervision de l'opération d'administration des antibiotiques aux oiseaux

Oui : 19 / Non : 27

Délivrance des antibiotiques sans ordonnance

Oui : 23 / Non : 23

Taux d'échec thérapeutique

Faible : 18 / Moyen : 28 / Fort : 0

Rencontre des situations d'impasse thérapeutique :

Oui : 23 / Non : 23

Respect des conditions d'usage des antibiotiques par les éleveurs

| | Durée de traitement | Temps d'attente |
|--------------------------------------|---------------------|-----------------|
| N'a jamais été respecté(e) | 2 | 7 |
| Respecté(e) par certains aviculteurs | 24 | 29 |
| Respecté(e) par tous les aviculteurs | 20 | 10 |

RESUME :

La présente étude a pour but d'étudier la résistance aux antibiotiques des *E.coli* d'origines aviaires. Pour cela des antibiogrammes sur des milieux gélosés ont été réalisés pour déterminer les niveaux de résistance des isolats d'*E.coli* de type AFEC et APEC. En parallèle une enquête de terrain a été menée auprès des vétérinaires des régions d'étude pour dévoiler les facteurs de risque liés à l'utilisation des antibiotiques en élevages de poulet de chair. Les résultats obtenus à la fin de cette étude sont inquiétants. Des forts taux de résistance de l'ensemble des isolats ont été remarqués pour : Doxycycline 98,33%, Amoxicilline (90%), Ampicilline (80%), Sulfamide-trémithoprime (78,33%), Kanamycine (65%), Acide nalidixique (85%), Ofloxacine (58,33%), Ciprofloxacine (61,66%). Un taux de résistance moyen est enregistré pour Chloramphenicol (38,33%). Un faible taux de résistance est observé pour un seul antibiotique, la Gentamycine (3,33%).

Un ensemble de pratiques à risque peuvent conduire à l'augmentation des niveaux d'antibiorésistance ont été mise en évidence à travers notre enquête de terrain elles correspondent :

- Au non respect des normes de construction des bâtiments d'élevage et le manque d'application des règles d'hygiène, ce qui favorisent la surconsommation des antibiotiques.
- A l'utilisation systématique des antibiotiques pour des raisons préventives.
- A la prescription des fluoroquinolones en prophylaxie.
- A la vente des antibiotiques sans ordonnance.
- A l'absence de la supervision de l'opération d'administration des antibiotiques.
- Au non recours à l'antibiogramme après l'échec de traitement.
- Au non-respect des conditions d'usage d'antibiotiques par les éleveurs.

Mots clés : Antibiotiques, Antibiorésistance, *E.coli* de type AFEC et APEC, Pratiques à risque.

SUMMARY:

The purpose of this study is to study the antibiotic resistance of *E.coli* of avian origin. For this, antibiograms on agar media were carried out to determine the levels of resistance of *E.coli* isolates of the AFEC and APEC type. In parallel, a field survey was carried out among veterinarians in the study regions to reveal the risk factors linked to the use of antibiotics in broiler chicken farms. The results obtained at the end of this study are worrying. High rates of resistance of all isolates were noted for: Doxycyclin (98,33%), Amoxicillin (90%), Ampicillin (80%), Sulfamide-tremitoprime (78.33%), Kanamycin (65%), Nalidixic acid (85%), Ofloxacin (58.33%), Ciprofloxacin (61.66%). An average resistance rate is recorded for Chloramphenicol (38.33%). A low rate of resistance is observed for a single antibiotic, Gentamycin (3.33%).

A set of risky practices can lead to increased levels of antibiotic resistance have been highlighted through our field survey and correspond to:

- Non-compliance with construction standards for livestock buildings and the lack of application of hygiene rules, which encourage overuse of antibiotics.
- The systematic use of antibiotics for preventive reasons.
- For the prescription of fluoroquinolones for prophylaxis.
- On the sale of antibiotics without a prescription.
- The absence of supervision of the antibiotic administration operation.
- Not using the antibiogram after treatment failure.
- Non-compliance with the conditions for the use of antibiotics by breeders.

Key words: Antibiotic, Antibiotic resistance, AFEC and APEC-type *E.coli*, Risky practices.