



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة ابن خلدون تيارت
UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET
معهد علوم البيطرة
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
قسم الصحة الحيوانية
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de docteur en médecine vétérinaire

Filière : Sciences Vétérinaires

Présenté par :

MEGHIT Sayah

THEME

***REALISATION DE LA SEROLOGIE ET
ANTIBIOGRAMMES EN AVICULTURE***

Jury :

Président : AMIRAT Mokhtar

Encadreur : HAMMOUDI Abdelhamid

Examineur I : Akermi Ammar

Grade :

Maitre de conférences A

professeur

Maitre-Assistant A

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

*Avant tout je remercie Dieu à qui je dois obéissance et reconnaissance.
Je voudrais tout d'abord adresser toute ma reconnaissance et ma gratitude à
mon encadreur, Monsieur Hammoudi Abdelhamid pour sa patience, sa
disponibilité et surtout ses judicieux conseils.*

*Mes sincères remerciements et ma gratitude vont aussi au Monsieur Amirat Mokhtar pour avoir
accepté de juger et d'en présider le jury de
soutenance.*

Que vous soyez assuré de mon entière reconnaissance.

*Mes sincères remerciements vont également à Monsieur Akermi Ammar qui
a accepté de juger ce travail en tant qu'examineur. Je lui adresse mes
sentiments les plus respectueux..*

Une pensée particulière pour

*Mes parents, sans qui je n'en serai pas là aujourd'hui, merci pour tout leur
amour et leur soutien depuis toujours. Ils ont su me donner toutes les chances
pour réussir. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail,
l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse
gratitude. je vous dédie ce mémoire en guise de remerciement et de
reconnaissance pour votre soutien constant et votre présence à mes côtés.*

Toute ma famille et tous mes amis qui me sont chers, tous mes collègues qui sont désormais des frères.

*Enfin, je remercie tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de
loin à la réalisation de ce travail*

DÉDICACES

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents, leur présence et leur générosité du cœur m'apportent beaucoup de force pour arriver à mes buts, que cet humble travail leur soit le témoin de mon admiration, de mon affection et exprime ma tendresse.

Mon très cher frère MOKHTAR.

A toute la famille MEGHIT.

A tous mes collègues.

A toute ma promotion.

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Données générales sur E. coli	
1. GENERALITES	3
2. ESCHERICHIA COLI.....	4
2.1. HISTORIQUE.....	4
2.2. CARACTERES MORPHOLOGIQUES.....	4
2.3. CARACTERES BIOCHIMIQUES.....	5
2.4. CARACTERES CULTURAUX.....	5
2.5. CARACTERES ANTIGENIQUES	6
2.6. CLASSIFICATION DES SOUCHES	7
2.6.1. Pathovars responsables d'infections intestinales	7
2.6.2. Pathotype à infections extra intestinales	9
2.7. FACTEURS DE VIRULENCE	10
2.7.1. Fimbriae de type I	10
2.7.2. Fimbriae de type P	10
2.7.3. Résistance au sérum	11
2.7.4. Aérobactine	11
2.7.5. Toxines.....	11
2.7.6. Hémagglutination.....	12
2.7.8. Antigène capsulaire.....	12
2.7.9. Hémolysine	12
2.8. Sérotypes	13
2.9. distribution environnementale	13
Chapitre II : la colibacillose aviaire	
3. Infections à escherichia coli.....	15
3.1. Colibacilloses respiratoire.....	15
3.2. La colisepticemie	15
3.3. Les formes génitales (salpingite et ovarite)	16
3.4. Swollen head disease: "syndrome infectieux de la grosse tête".....	16
3.5. Omphalites	17
3.6. Cellulite.....	17
3.7. Arthrite, Synovite.....	17
3.8. Granulomes à Escherichia coli "Hjarres's disease"	18
4. Epidémiologie des infections à <i>Escherichia coli</i>	18
5. Pathogénie des infections dues aux souches APEC.....	19
5.1. Colonisation du tractus respiratoire	19
5.2. Pénétration de la muqueuse	20
5.3. Dissémination dans l'organisme.....	20
6. DIAGNOSTIC	20
6.1. Diagnostic différentiel	21
6.2. Isolement et identification.....	21
7. Traitement et prophylaxie	21
7.1. Traitement	21
7.2. Prophylaxie	22
Chapitre III : Antibiotiques et antibioresistance	
8. Les antibiotiques	25
8.1. Les antibiotiques utilisés en espèce aviaire	25
8.2. L'antibiorésistance.....	26
8.2.1. Définition	26

8.2.2. Origine de l'antibioresistance	27
8.2.3. L'état de l'antibiorésistance dans le monde.....	29
Etude expérimentale	
Matériels et méthodes	
I Lieu de travail:.....	32
II Animaux	32
III Matériels	32
1. Milieux de culture	32
2. Produits de laboratoire	32
3. Matériel d'autopsie	32
IV. Méthodes	
1. Examen clinique des poulets malades.....	33
2. Autopsie et réalisation des prélèvements	33
2.1. Autopsie	33
2.2. Prélèvement des Organes	33
3. Isolement bactériologique.....	33
4. Purification des isolats	34
5. identifications des isolats	34
5.1. Analyses préliminaires des isolats	34
5.1.1. Observation microscopique (coloration de Gram) :.....	34
5.2. Identification biochimique par galerie Api 20E.....	34
6. Antibiogramme	36
Résultats et discussion	38
Conclusion	43
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	45

liste des tableaux:

Tableau01 : Antibiotiques utilisés en espèce aviaire dans le monde (Baka; 2002, Nadeau et al).....24
Tableau 02 : Mécanisme biochimiques de la résistance acquise des familles antibiotique.....26
Tableau 03 :résultats de la antibiogramme des isolats récoltes.....38

liste des figures:

Figure N°01 : Aerosaculite.....37
Figure N°02 : Péricardite et Périhépatite fibrineuses.....37
Figure N°03 : Profil biochimique d'E.coli sur Galerie Api 20E.....38
Figure N°04 : Taux de résistance aux antibiotiques.....39

LISTE DES ABREVIATIONS

- ADH : Adénine Déshydrogénase.
- ADN : Acide désoxyribonucléique.
- AMC : Amoxicilline+acide clavulanique.
- AMP : Ampicilline.
- APEC : Avian pathogenic escherichia coli.
- ATB : Antibiotique.
- CN : Gentamicine.
- CT : Colistine.
- E. coli : Escherichia coli.
- EPEC : Entéropathogenic Escherichia coli.
- GEL : Gélatine.
- H₂S : Sulfure d'hydrogène.
- IND : Indole.
- LDC : Lysine Décarboxylase.
- mn : Minute.
- mm : Millimètre.
- ml : Millilitre
- μm : Micromètre.
- ONPG : Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside.
- ODC : Orthinine Décarboxylase
- -PH : Potentiel d'hydrogène.
- SAC : Saccharose.
- SOR : Sorbitol
- Spp : Sous espèce.
- ST : Heat stable enterotoxin.

-STX : Shigatoxin.

-TDA : Tryptophane désaminase

-TE : Tétracyclines.

-THF : Tétrahydrofolate.

-Tsh : Hémagglutinine sensible à la température.

-UPEC : Uropathogenic Escherichia coli.

-URE : Urée.

AMX :Amoxicilline+acideclavulanique

N :Néomycine

GEN :Gentamycine

T :Tétracyclines

SXT :triméthoprim-sulfaméthoxazole

NA :acidenalidixique

CIP : ciprofloxacine

C : chloramphénicol

LPS :lipopolysacharidae

ST : thermostable

LT : thermolabile

Introduction

Introduction

Les *Escherichia coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille, dont la plupart des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre de ces dernières appartenant à des sérotypes bien particuliers appelées “Avian Pathogenic *E. coli*” ou APEC sont associées au syndrome de la colibacillose.

En filière avicole, la colibacillose aviaire est la pathologie bactérienne la plus fréquente (Robineau et Moalic, 2010). Même si elle est le plus souvent considérée comme une infection secondaire (Nakamura et al., 1992 ; Barnes et al., 2008), elle affecte tous les systèmes de production et engendre de lourdes pertes économiques. En effet, elle cause de la mortalité, une diminution des performances, une chute de l’éclosabilité et représente une importante cause de saisie à l’abattoir. A cela viennent s’ajouter les frais en antibiothérapie qu’engendrent les diverses manifestations de cette maladie. (Barnes et al., 2008).

Etant donnée le peu de connaissance sur l’énorme diversité des souches d’*E. coli* aviaires en matière de facteurs de virulence, aucun vaccin n’est disponible à l’heure actuelle pour lutter efficacement contre la maladie. En conséquence, l’antibiothérapie basée sur un diagnostic adéquat ainsi que la prophylaxie, restent encore les seuls moyens de lutte contre cette maladie (Stordeur et Mainil, 2002).

D’un autre côté, l’usage croissant des antibiotiques dans un but thérapeutique et prophylactique s’est malheureusement traduit par une augmentation progressive du nombre des bactéries résistantes.

Ce problème est aussi à l’origine d’un risque pour la santé publique. En effet la volaille représente un réservoir de souches résistantes transmises à l’homme via la chaîne alimentaire Tancrede, 1983.

La tendance élevée à la multi résistance est une des caractéristiques des souches d’*Escherichia coli* (Amara, 1996). Elle est à l’origine de la réduction de l’efficacité thérapeutique et prophylactique de plusieurs antibiotiques utilisés chez la volaille.

Chapitre I : Données générales sur E. coli

1. GENERALITES

L'aviculture est indéniablement la branche des productions animales qui a enregistré en Algérie le développement le plus remarquable au cours de ces vingt dernières années.

Cependant, les produits d'origine avicole commencent à occuper une place très importante dans la structure de la ration alimentaire de l'Algérien. (FENARDJI, 1990)

L'évolution de ce secteur qui met en place un circuit avicole moderne et industriel représente un excellent exemple d'un environnement artificiel, créé pour augmenter les productions animales, cet avantage s'accompagne parfois, par un manque de maîtrise dans la conduite de l'élevage, de nombreux inconvénients (facteur physique, chimique et biologique) (AICHOUNI, 2005)

Tous les stress occasionnés par la plus ou moins bonne conduite des bandes de volailles provoquent des maladies parfois en cascade aggravées par le nombre et la promiscuité des individus. Ils agissent en cofacteur permettant l'expression d'une pathologie virale, bactérienne ou parasitaire. (La Ragione, Woodward, 2002).

Les principaux problèmes sanitaires rencontrés en élevages sont de type infectieux.

Les flores microbiennes des sphères respiratoires et digestives jouent un rôle majeur sur l'état sanitaire des animaux et leurs performances zootechniques.

L'introduction d'animaux d'origines diverses représente un risque important d'implantation de nouvelles souches microbiennes pouvant modifier les équilibres de flores dans un sens négatif, voire ouvrir la voie à des bactéries pathogènes. (Villate, 2001).

les principales maladies d'origine infectieuse rencontrée en élevage avicole sont : les salmonelloses (*salmonella*), pasteurelloses, staphylococcies, streptococcies, mycoplasmes et les colibacillooses ou les infections à *E.coli* dont les plus fréquentes et les plus importantes sont les colibacillooses ou les infections à *Escherichia Coli*.

Elles sont devenues les plus redoutables par les dégâts qu'elles occasionnent. Les pertes économiques sont importantes à savoir mortalités, contre performances et troubles divers de la reproduction : chute de l'éclosabilité, augmentation de la mortalité en coquille ou en boîtes les premiers jours. (Amara et al; 1995).

Dans les années récentes, la colibacillose est devenue une importante maladie particulièrement des poulets de chair âgés entre 6 et 9 semaines et moins fréquemment des jeunes poussins durant la première quinzaine après l'éclosion (Blanco et al; 1997).

Les *ESCHERICHIA Coli* aviaires, bien que considérés par beaucoup comme pathogènes secondaires, représentent à l'heure actuelle l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur avicole et constitue aussi l'un des motifs de saisie les plus fréquentes à l'abattoir. (Stordeur.P.; Mainil.J; 2003)

Ce sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la plupart des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre de celles-ci appelées "Avian Pathogenic *E. coli*" ou APEC et appartenant à des sérotypes bien particuliers sont associées au syndromes de la colibacillose, dont les lésions et les manifestations peuvent être variables suivant l'âge de l'animal (infection de la vésicule vitelline, colisepticémie, maladie respiratoire chronique ou CRD, salpingite, péritonite, affection chronique de la peau "swollen-head disease", ostéomyélite). (Gross; 1994).

2. ESCHERICHIA COLI

2.1. HISTORIQUE

ESCHERICH a isolé en 1885, dans les fèces du nourrisson un germe qui a été appelé *E. coli*. Plusieurs travaux tendent à confirmer le rôle pathogène de cet agent dans les entérites des nouveau-nés, ainsi que dans des troubles divers atteignant de nombreuses espèces animales notamment les volailles. Ces dernières ont été l'objet de plusieurs recherches. (Fedee .M., 1998).

LIGNIERES, en 1894 décrit dans une étude expérimentale chez les volailles une affection de type septicémique, en provoquant la maladie par injection à des poules en intraveineuse des cultures d' *E.coli*. (Martel M; 1997).

MARTEL, en 1897 démontre que l'inoculation du germe dans les muscles pectoraux des poulets provoque des lésions de péricardite, des conjonctivites, des entérites, des omphalites, des granulomatoses et des panophtalmies. (Quinn, P. J et al; 1994).

2.2. CARACTERES MORPHOLOGIQUES

Escherichia coli est un bacille gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae.

E. coli est une bactérie Gram négatif (1000 sérotypes) de coloration uniforme de 2-3 microns de long et de 0,6 micron de large, et aux extrémités arrondies, appartenant à la famille des entérobactéries. L'organisme peut être variable en taille et en forme. Les souches sont en général mobiles et possèdent une couronne flagellaire. Il n'y a jamais de spores. Certaines souches sont capsulées et donnent des cultures mucoïdes sur milieu solide. Les *E. Coli* forment des amas entourés de longs cils péritriches. (Payne S.M; 1988).

2.3. CARACTERES BIOCHIMIQUES

Escherichia coli est caractérisé par la fermentation rapide du lactose (24 à 48 heures), la fermentation du dulcitol et la salicine. Ces caractéristiques ont plus de corrélation avec le sérotype qu'avec la virulence des souches APEC. (Dho moulin; Fairbrother, 1999).

C'est une bactérie qui ne possède pas de désaminase et fermente le glucose par la voie des acides aminés (rouge de méthyle+), elle donne une réaction négative dans les tests de voges-Proskauer et citrate.

a- Les caractères positifs :

- Glucose +
- Lactose +
- B galactosidase +
- Mannitol +
- Indole +
- Rouge de méthyle +
- Nitrate +

b- Les caractères négatifs :

- Adonitol -
- Inositol -
- Voges proskauer -
- Citrate de simmons -
- H₂S -
- Uréase -
- Gélatinase -

c- Les caractères variables :

- Saccharose ±
- Salicine ±
- Dulcitol ±
- Acide phényle propionique ±
- Lysine ±
- Arginine ±
- Acide glutamique ±

2.4. CARACTERES CULTURAUX

Les *E coli* se cultivent facilement sur des milieux ordinaires, à une température de 37°C mais la culture est possible entre 20°C et 40°C.

Ils sont aéro-anaérobie facultatif. Leur pH optimum se situe entre 7 et 7,2 mais ils supportent un pH de 5,8 à 8 (voisin de la neutralité), leur temps de division varie entre 20 à 40 minutes. (Berche, 2002).

Sur gélose simple, les colonies atteignant 2-3 mm sont rondes, lisses, brillantes, à bords bien délimités ou réguliers dans le cas des colonies lisses ou smooths mais il existe aussi des formes rugueuses qui présentent un contour irrégulier, une surface rugueuse.

Sur milieu liquide, elles occasionnent un trouble uniforme du bouillon.

Les cultures se font en principe sur des milieux plus sélectifs qui permettent l'identification et l'isolement des E. coli. Ils contiennent des produits inhibiteurs vis-à-vis des bactéries Gram positifs, mais aussi des indicateurs colorés de pH (rouge phénol). Ces milieux facilitent l'isolement de ces bactéries en vue de l'identification. (Le Minor et Veron, 1989).

2.5 CARACTERES ANTIGENIQUES

Au sein de chaque genre, on individualise des *espèces*, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi (« somatiques ») ou antigènes O. Les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (« flagellaires ») ou antigènes H. Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K (Mainil; 2005).

a. Antigène O ou antigène somatique:

L'antigène O est l'endotoxine des bactéries à Gram négatif. Il est composé de lipopolysaccharides (LPS) complexes (antigène de la paroi). Il en existe près de 160 sérotypes. Il contient un grand nombre d'unités répétées d'oligosaccharides de 3 à 6 sucres dont la combinaison détermine la diversité d'antigènes O.

On peut identifier ces antigènes par plusieurs techniques dont la plus courante est l'agglutination sur lame avec des sérums spécifiques : la présence d'une agglutination indique qu'il y a correspondance entre le sérum utilisé et un antigène de la souche étudiée.

Au cours des infections systémiques à entérobactéries, il y a lyse bactérienne et libération d'antigène O. En raison de sa toxicité, celui-ci entraîne un certain nombre d'effets physiopathologiques. Etant antigénique, il entraîne aussi la formation d'anticorps spécifiques anti-O qui peuvent être dosés dans certains cas et fournir un moyen *indirect* de faire le diagnostic de la maladie, comme par exemple le sérodiagnostic de WIDAL et FELIX dans le cas des fièvres typhoïde et paratyphoïdes. (Cours de Bactériologie DCEM1; 2002-2003).

b. Antigène H ou antigène flagellaire:

L'antigène H n'est pas toxique. De nature protéique, il ne sert pas à l'identification des E coli pathogènes mais présente un intérêt au point de vue épidémiologique: l'identité de l'antigène H constitue un élément pour assurer qu'il s'agit de la même souche.

La diversité des antigènes H est due aux différents types de flagelline composant la structure du flagelle. (Encyclopédie WIKIPEDIA; fr.wikipedia.) Il en existe pré de 60.

On peut les mettre en évidence par agglutination sur lame avec des sérums spécifiques. Au cours des infections systémiques à entérobactéries, il y a formation d'anticorps anti H. Ces anticorps qui ne sont pas neutralisants (c'est-à-dire qui n'ont pas d'effet protecteur) peuvent être dosés et permettre alors, avec les anticorps anti-O, de faire le sérodiagnostic des infections à entérobactéries. (Cours de Bactériologie DCEM1; 2002-2003).

c. Antigène K ou antigène capsulaire:

Il existe trois types d'antigènes K désignés par les lettres L, A ou B. il en existe 100.

- l'antigène L est le plus fréquent mais est thermolabile (il est détruit en 1/2h. à 100°C). Donc, le chauffage provoque une perte du pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les agglutinines et du pouvoir de masquer l'antigène O.
- l'antigène A est rare; c'est un antigène capsulaire (les E. coli encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'antigène A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).
- L'antigène B est toujours présent chez les *E.coli* entéropathogènes des gastro-entérites infantiles. Il a une thermolabilité intermédiaire: après 1/2 h à 100°C, il reste toujours de l'antigène A mais l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par trouage de l'enveloppe, la fixation de l'agglutinine est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage). (Mainil, 2005).

L'antigène K qui entoure la paroi de certaines entérobactéries peut masquer l'antigène O. (Cours de Bactériologie DCEM1; 2002-2003).

2.6. CLASSIFICATION DES SOUCHES

2.6.1. Pathovars responsables d'infections intestinales : agents de diarrhées

Les souches pathogènes de *Escherichia coli* sont reconnues comme des agents responsables de syndromes diarrhéiques d'origine alimentaire ou hydrique.

Six principaux pathotypes intestinaux sont décrits en fonction des signes cliniques engendrés et des facteurs de pathogénicité exprimés.

Ce sont:

- **les *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC):**

Ils sont responsables des diarrhées du voyageur, fréquents dans les pays chauds et humides et seulement rencontrés en France lors de cas importés par des voyageurs venant de ces pays d'où le nom de "turista" donné à ces diarrhées.

Ils sont liés à la présence d'entérotoxines, les unes thermostables (ST), les autres thermolabiles (LT), et d'adhésines permettant aux bactéries d'adhérer aux cellules épithéliales de la muqueuse de l'intestin grêle et de s'y multiplier. Les gènes de ces deux types de facteurs de pathogénicité ont un support plasmidique (Centres Nationaux de référence des *Escherichia coli*)

- **les *Escherichia coli* entéro-pathogènes (EPEC)**

A l'origine d'entérites épidémiques (antérieurement aussi appelés gastro-entérites infantiles (GEI), et historiquement classés selon leur appartenance à des sérotypes. Ces *E. coli* étaient une cause majeure de diarrhées chez les nourrissons qui sévissaient dans les maternités, les crèches, etc. Ils ont pratiquement disparus dans les pays industrialisés, mais continuent d'être responsables de diarrhées dans les pays en voie de développement. Les EPEC colonisent la muqueuse intestinale en adhérant très fortement aux entérocytes intestinaux, produisent des lésions d'attachement et d'effacement caractérisées par la destruction localisée des micro villosités de la bordure en brosse, et en induisant des altérations au niveau du cytosquelette des cellules épithéliales. (Centres Nationaux de référence des *Escherichia coli*).

- **les *Escherichia coli* entéro-hémorragiques (EHEC)**

E. coli entéro-hémorragique (EHEC): caractérisé par l'Ag O 157 et H7. Provoque des diarrhées hémorragiques pouvant donner un syndrome hémolytique et urémique (insuffisance rénale). Ces souches produisent une toxine particulière qui a une action sur les endothéliums des capillaires et sur les GR. (Gordon, 1977).

- **les *Escherichia coli* entéroinvasifs (EIEC)**

A l'origine de syndromes dysentériques. Intermédiaires entre les *Escherichia coli* et les *Shigella* dont ils possèdent le pouvoir pathogène, ils provoquent des ulcérations de la muqueuse du gros intestin, d'où la présence de pus et parfois de sang dans les selles et sont caractérisés par le caractère invasif des cellules dû à l'acquisition d'un plasmide. La capacité de la bactérie à envahir les cellules épithéliales peut être démontrée par le test de Sérény *in vivo*, en provoquant une kératoconjonctivite purulente à la suite du dépôt de la bactérie sur la cornée du cobaye. (Centres Nationaux de référence des *Escherichia coli*)

- **les *Escherichia coli* entéroagrégatifs ou EaggEC, ou AAEC**

Ce pathotype, reconnu depuis quelques années, est associé plus particulièrement à des diarrhées aqueuses persistantes chez les jeunes enfants dans les pays en développement (Inde, Brésil), ou développés mais aussi à des diarrhées sanglantes occasionnelles. Les souches EaggEC se caractérisent par un type d'adhésion agrégative en " briques empilées " à

l'origine de nécroses au pôle apical des villosités avec œdème inflammatoire et hémorragique de la sous-muqueuse. Elles élaborent une entérotoxine thermostable (EASTI) et une thermolabile.

- **les *Escherichia coli* à adhésion diffuse ou DAEC**

Ils ont été récemment associés à des diarrhées aiguës et persistantes chez des enfants dans les pays développés ou en développement. Les diarrhées peuvent être aqueuses et contenir du mucus. La durée moyenne est de 8 jours. Les DAEC adhèrent seulement aux cellules Hep-2 et paraissent uniformément dispersés sur toute la surface des cellules épithéliales en un profil diffus. (Centre Nationaux de référence des *Escherichia coli*)

2.6.2. Pathotype à infections extra intestinales

- ***Escherichia coli* uropathogènes (UPEC)**

Ils sont responsables de la majorité (90 %) des infections survenant sur un arbre urinaire normal : cystites, pyélonéphrites. Leur pouvoir pathogène est caractérisé par une adhésion aux cellules uro-épithéliales grâce à plusieurs types d'adhésines, et à d'autres facteurs comme l'hémolysine alpha et les sidérophores.

- **Autres *Escherichia coli* pathogènes non responsables de diarrhées**

Les *E. coli* sont responsables de 50 % des septicémies dues à des bactéries à gram négatif et de 4 % des méningites bactériennes touchant principalement les nouveaux nés et les patients de neurochirurgie. Les souches possédant l'antigène K1 sont en cause dans 80 % des méningites néonatales et 40 % des septicémies à *Escherichia coli*. L'antigène K1, homopolymère d'acide sialique, est considéré comme le facteur de pathogénicité le plus important parmi les *E. coli* causant les méningites néonatales. Il a une activité antiphagocytaire importante et présente une communauté antigénique avec le polysaccharide B du méningocoque. Les sidérophores jouent un rôle dans la septicémie. Les *E. coli* sont également isolés dans des péritonites, cholécystites, prostatites, infections puerpérales, infections nosocomiales, de plaies chirurgicales.

- ***Escherichia coli* pathogène aviaire (APEC)**

Les *Escherichia Coli* pathogènes des volailles responsables d'infection extra-intestinales, septicémique ou localisées, dues aux propriétés invasives des souches en causes. Le point départ de ces infections est le plus souvent respiratoire.

Les APEC « avian pathogenic *E- Coli* » sont trouvés dans la flore microbienne intestinale des oiseaux sains et la plupart des maladies liées à elles sont secondaires. Les isolats d'APEC appartiennent généralement à certain sérogroupage O1, O2 et O78, et à un nombre restreint de copie.

2.7. FACTEURS DE VIRULENCE

Un certain nombre de facteurs de virulence ont été étudiés chez les APEC. Ces facteurs de virulence regroupent les adhésines (fimbriaires ou afimbriaires) impliqués dans l'adhérence des bactéries au tractus respiratoire, la résistance à l'activité bactéricide du complément ou résistance au sérum, nécessaire à la survie des bactéries dans le sang, les systèmes de captation de fer (aérobactine), utiles à la multiplication des bactéries dans le sang; les toxines;(Dhommoulin et Fairbrother, 1999). et d'autres propriétés récemment décrites tels que les flagelles, les antigènes capsulaires, l'hémolysine, la tolérance à l'acide et les plasmides de colicine V. (La Ragione; Woodward; 2002).

2.7.1. Fimbriae de type I

Ce sont de longues protéines filamenteuses de 7nm de diamètre et de 0,1-2 μm de long. Elles sont composées principalement d'un seul polypeptide répété arrangé sous forme d'hélice pour former hollow fibre.

Les fimbriae de type I sont constitués d'une protéine majeure FimA, associée à d'autres protéines ancillaires (FimF et FimG) et d'une adhésine FimH. Celles-ci sont codées par un ensemble comprenant 9 gènes dont 7 sont présents sur un même opéron. (Stordeur .P.; Mainil.J; 2001).

Ces fimbriae ont la capacité de lier le D-mannose et de cette façon de lier plusieurs types de cellules eucaryotes telles que les cellules inflammatoires des intestins, des poumons, des reins et de la vessie. Ils agglutinent les érythrocytes de plusieurs espèces, mais cette agglutination peut être inhibée par l'addition de 3% de D-mannose. (La Ragione; Woodward; 2002).

In vivo, les fimbriae de type I sont exprimés surtout dans la trachée, les poumons et les sacs aériens. Leur expression ne fut jamais observée dans d'autres organes ni dans le sang. (Dozois et al, 1994).

Leur rôle dans l'infection n'est pas très clair, la Ragione (2000a) a démontré qu'ils sont particulièrement importants dans l'adhésion des APEC aux cellules épithéliales in vitro ainsi que dans la colonisation et l'invasion.

D'autres études ont démontré qu'ils ne sont pas nécessaires pour la coloniser la trachée et les sacs aériens (Marc et al 1998). Par contre leur perte semble un élément favorable à la colonisation trachéale par les PAEC. (Arne et al.; 2000).

2.7.2. Fimbriae de type P

Les fimbriae de type P ou F11 furent d'abord découverts chez des souches d'E.coli associées à des infections du tractus urinaire supérieur chez l'homme. On les retrouve occasionnellement dans les isolats urinaires des canins, chez les porcs septicémiques et en minorité chez les APEC. (Vidotto et al.; 1997)

La présence de ces fimbriae est significativement plus fréquente chez les souches isolées de poulets septicémiques que chez des souches isolées de poulets sains.

Le rôle de cette adhésine n'est pas encore tout à fait élucidé. Elle ne semble pas jouer de rôle majeur dans l'adhésion aux cellules du pharynx et de la trachée, suggérant que le récepteur de cette adhésine n'y est pas présent. En d'autre terme, cette adhésine pourrait jouer un rôle tardif dans le processus de l'infection (colonisation des organes systémiques et occasionner la septicémie) (Pourbakhsh et al., 1997).

A l'heure actuelle, les études sur une grande collection de souches isolées de volailles présentant des lésions de colibacillose montrent que, les fimbriae de type P sont retrouvés chez 20 à 25 % de ces souches. (Dho-moulin et al, 1999).

2.7.3. Résistance au sérum

La résistance à l'effet bactéricide du complément dans le sérum, médiée par différentes structures bactériennes comme la capsule, le lipopolysaccharide, des protéines de membrane externe, est associée aux souches APEC, surtout celles isolées de lésions de septicémie. (Gross, 1994).

Certaines études ont démontré qu'il existe une corrélation entre la résistance au sérum et le taux de létalité chez des poussins d'un jour. Il a été aussi démontré qu'une corrélation existe entre la résistance au sérum et la virulence des souches inoculées par voie intraveineuse chez des dindes de trois semaines. (Dho-moulin et Fairbrother.; 1999).

2.7.4. Aéro bactéine

La faible quantité de fer disponible dans les liquides physiologiques ne permet pas aux bactéries de pouvoir se multiplier. C'est pourquoi, elles ont acquis un système très efficace de captation du fer leur permettant de survivre en présence de faibles concentrations en fer.

Plusieurs études ont démontré que la plupart des souches APEC (73-89%) possède le système d'acquisition du fer appelé aéro bactéine, alors que les souches non pathogènes le produisent moins fréquemment. Ce système fonctionne in vivo et son rôle principal serait de permettre aux bactéries de se multiplier dans le sang ou les organes autres que l'intestin. (Emery et al, 1992).

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

2.7.5. Toxines

Quelques études ont démontré que les souches APEC sont capables de produire des toxines pouvant être impliquées dans le processus pathogénique.

Blanco et al (1997) ont reporté que parmi 625 souches d'APEC isolées, seulement 7% était toxigène. (Blanco et al, 1997)

Salvadori et al (2001) ont montré que les souches APEC produisent une toxine appelée "vacuolating cytotoxin" qui ressemble à celle produite par *Helicobacter pylori*. Elle est décrite chez une trentaine de souches aviaires pathogènes. (Strodeur.P; Mainil.J; 2001).

Des souches APEC et plus particulièrement le sérotype O86:K61, isolée chez des oiseaux sauvages est capable de produire une toxine cytolétale distending (CLDT). (La Ragione; Woodward; 2002).

2.7.6. Hémagglutination

Provence et CURTISS (1994) ont reporté que l'activité de l'hémagglutinine est exprimée à une température de 26-30°C mais elle est réprimée à une température de 42°C, d'où son nom de "hémagglutinine sensible à la température"(tsh).

Il a été démontré que le gène tsh est présent chez les souches isolées à partir d'animaux malades par contre il est absent chez les souches isolées des fèces d'animaux sains. (Ferreira et al; 2005).

Une étude réalisée sur 300 souches d'APEC provenant de poussin d'un jour montre que parmi les souches possédant le gène Tsh, 90,6% font partie des souches les plus virulentes. Il a été aussi démontré que l'hémagglutinine thermosensible contribue au développement des aérosacculites associées aux *E. coli* chez le poulet (Dozois et al, 2000).

2.7.8. Antigène capsulaire

La capsule est constituée de polysaccharides, elle est associée aux infections extra intestinales. La capsule K1 qui est considérée comme un agent important des infections chez l'homme est élaborée par les sérotypes prédominants des souches APEC.(Gross, 1994) Elle est peu immunogène, elle joue un rôle anti phagocytaire et peut être impliquée dans la résistance au sérum. (Mainil, 2004).

Bree et al (1989) ont démontré que l'antigène K1 est un déterminant virulent des sérotypes aviaires O0:K1.

2.7.9. Hémolysine

Blanco et al (1997) ont reporté que parmi 625 souches APEC testées, seulement 2,6% produisent une entérohémolysine.

2.8. Sérotypes

Les premières études menées sur les colibacilles aviaires par Sojka et Carnaghan montrent que les sérogroupes les plus fréquents sont O1, O2, O35 et O78. (Sojka et Carnaghan; 1961 cité par Blanco et al, 1998). Les dernières études réalisées montrent que les plus présentes et les plus pathogènes sont les sérotypes O1, O2 et O78, représentant de 15 à 61 % des souches isolées bien que d'autres soient aussi présents. Les autres sérotypes représentés de manière significative sont : O8, O15, O18, O35, O88, O109, O115 et O116. Ces résultats ont été confirmés sur une grande collection de souches aviaires isolées d'animaux morts de colibacillose par le biais d'une enquête épidémiologique et par un test de létalité sur poussins d'un jour. (Blanco et al, 1998).

2.9 DISTRIBUTION ENVIRONNEMENTALE

Le plus important réservoir des *E.coli* aviaires est le tractus digestif de l'animal dont 10 à 15% de la population colibacillaire appartient à des sérotypes potentiellement pathogènes. Chez le poulet, les concentrations sont de l'ordre de 10^6 colibacilles par gramme de matière fécale. Les plus grandes concentrations étant retrouvées chez les animaux de moins de 3 semaines, essentiellement au niveau du tractus digestif postérieur. *E. coli* est aussi un résident normal des voies respiratoires supérieures, notamment du pharynx et de la trachée. Aussi elle est présente sur la peau et les plumes. Il s'agit toujours tant de l'*E. coli* APEC que de l'*E. coli* inoffensif. (Dho-moulin, Fairbrother, 1999).

Déjà dans les premières heures après éclosion les oiseaux commencent à développer leur flore *E. coli*. Les germes se multiplient rapidement dans l'intestin. Un grand nombre d'espèces *E. coli* sont toujours présents, issu de l'environnement d'autres oiseaux, de l'eau et de la nourriture. (Gross, 1994). Sa présence dans les abreuvoirs est considérée comme signe de contamination fécale. (Feron, 1992).

Les *E.coli* sont très facilement véhiculées par la poussière qui constitue une source importante de contamination en élevage. Il a été démontré que la poussière des poulaillers contient 10^5 - 10^6 *E.Coli* /g (cette bactérie persiste longtemps dans 1 milieu sec et réduite à 84-97% dans 1 milieu humide), et que les sérotypes s'y retrouvant s'avéraient être identiques à ceux retrouvés dans les lésions septicémiques. (Stordeur, Mainil, 2001).

La transmission par l'œuf des *E.Coli* pathogène est souvent responsable de la mortalité levée chez le poussin. La plus importante source d'infection de l'œuf semble être par contamination fécale de la surface avec pénétration ultérieure de la coquille et les membranes. Les bactéries coliformes peuvent se retrouver dans la litière et les matières fécales. (Villate, 2001).

Chapitre II : la colibacillose aviaire

3. INFECTIONS À *ESCHERICHIA COLI*

3.1. Colibacilloses respiratoire

Les poulets, les faisans, les canards et les dindes peuvent être affectés par ce type de pathologies qui sont majoritairement des infections à point de départ respiratoire et qui font suite dans la plupart des cas à une infection virale (virus de la maladie de Newcastle et de bronchite infectieuse), mycoplasmique (*Mycoplasma gallisepticum*), à un accident de vaccination ou à une concentration trop élevée en agents irritants (poussière ou ammoniac). (Gordon, 1977).

La colibacillose respiratoire est considérée comme l'une des maladies les plus importantes causées par *E. Coli*. Cette maladie est aussi appelée : Aérosacculite ou maladie respiratoire chronique.. Elle affecte particulièrement l'élevage de poulets de chair de 2 à 12 semaines, avec des pertes importantes entre 4 et 9 semaines. (La Ragione, Woodward, 2002).

Les pertes sont plus souvent d'ordre économique, avec un taux de mortalité qui peut atteindre 30 à 50% et un taux de morbidité pouvant dépasser 50%, une réduction significative de croissance et des saisies à l'abattoir. (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

Si le colibacille vient compliquer une affection respiratoire, les premiers signes seront ceux de l'affection primaire. Si la colibacillose est primitive, le premier signe clinique rencontré est une chute importante de la consommation alimentaire, les animaux sont indolents et présentant des symptômes respiratoires non spécifiques (râles, toux, jetage, éternuements, larmolement et sinusite) accompagnés d'une hyperthermie (42à 44°C) et une détresse respiratoire (bec ouvert, respiration accélérée et irrégulière). (Villate 2001).

Au niveau lésionnel, on observe des lésion d'inflammation des séreuses viscérales: péricardite, périhépatite, aérosacculite et par contiguïté une péritonite, plus ou moins exsudatives. (Guerin; 2007).

La périhépatite se traduit par une hypertrophie du foie qui est foncé et couvert d'un exsudat fibrineux avec présence parfois de foyers nécrotiques. Au niveau du cœur, le péricarde est rempli d'un exsudat fibrineux. Les sacs aériens perdent leur transparence, s'épaississent et présentent un aspect congestif. (Payne, 1988).

Le premier signe microscopique est l'infiltration des hétérophiles suivie par une prédominance des phagocytes mononucléaires. (Dho-Moulin, Fairbrother, 1999).

3.2. La colisepticémie

La septicémie due à *E.Coli* est une infection qui touche les poulets adultes. Elle se traduit par des mortalités brutales chez les sujets qui ont une faible résistance à cette bactérie.

Elle entraîne des lésions aiguës touchant le foie, la rate, le rein et l'intestin, due aux sérogroupes O1, O2, O8, O35 et O78, très fréquentes chez les poulets de chair élevés industriellement. (Barka, 2002).

Les lésions peuvent être absentes mais on peut observer une péricardite, une péritonite, quelques foyers nécrotiques au niveau du foie. (Dho-Moulin, Fairbrother, 1999).

3.3. Les formes génitales (salpingite et ovarite)

Elles se rencontrent sur les futures reproductrices avant l'entrée en ponte ou sur les adultes avec ou sans symptômes respiratoires et se traduisent par de chutes de ponte survenant en particulier au 2^{ème} et 3^{ème} mois de ponte, des morts subits (2 à 3% par mois) et des diarrhées blanches.

Cette forme génitale de l'infection provoque chez le poussin des mortalités embryonnaires (15 à 20%), des mortalités en coquille (3 à 5%) et des mortinatalités (10 à 20%). (Aichouni; 2001).

Cette maladie, plus souvent chronique, apparaît lorsque le sac aérien abdominal gauche est atteint par les E. coli. Les bactéries se propagent par contiguïté de tissu, pour atteindre l'oviducte et y persister quelques temps. (Dho-Moulin et Fairbrother; 1999). Elle peut être la conséquence d'une infection par voie ascendante consécutive à une insémination artificielle, soit associée à des lésions de péritonite et/ou d'impaction de l'oviducte. (Stordeur et Woodward, 2002).

L'examen nécroscopique révèle la présence d'un exsudat caséux parfois lamellaire dans l'oviducte, souvent associé à une ponte intra-abdominale d'ovules infectés, à aspect cuit. (Villate; 2001).

3.4. Swollen head disease: "syndrome infectieux de la grosse tête"

La "Swollen head disease" est souvent associée à la colibacillose. Cette maladie est caractérisée par une inflammation aiguë à subaiguë des cellules de la peau et du tissu sous cutané de la tête et des régions périorbitaires. La colonisation des tissus par les colibacilles est secondaire à une infection par des agents prédisposants comme les virus (pneumovirus, para-myxovirus, coronavirus) ou des teneurs élevées en ammoniac (White *et al.*, 1990). La morbidité est souvent faible (1%), mais les animaux présentant les symptômes en meurent dans la majorité des cas (Parreira *et al.*, 1998).

La maladie apparaît le plus souvent aux alentours de la 30^e semaine et les conséquences les plus importantes sont des retards de croissance qui résultent de l'infection et entraînent des pertes économiques conséquentes.

Les lésions microscopiques consistent en l'apparition d'un œdème de la tête et de la région périorbitaire, d'un exsudat caséux dans le tissu conjonctif de ces mêmes régions ainsi qu'au niveau des glandes lacrymales. (Pattison *et al.*, 1989).

Le syndrome infectieux de la grosse tête est caractérisé macroscopiquement par un gonflement oedémateux des paupières renfermant une inflammation diffuse des cellules, des oedèmes sous cutanés périodiques qui se durcissent par envahissement caséux fibrineux, des sinusites, rhinite, laryngite, conjonctivite purulente, arthrite maxillaire. Microscopiquement on a une inflammation des voies aériennes supérieures. *E.Coli* peut être isolé des lésions. (Skutelsky E., Ron E.Z.,1984).

L'apparition de la maladie exige une infection précédente avec des coronavirus inconnus précédemment. L'infection peut être reproduite suivant l'infection combinée *E.Coli*-coronavirus, les poulets de chair sont protégés de l'infection clinique suite à la vaccination avec des coronavirus atténués, les lésions n'affectent pas les sinus infra orbitaires. (Desautels C, Martineau-Doizé B., Fairbrother J.M., 1997).

3.5. Omphalites

Les omphalites colibacillaires correspondent à des fautes d'hygiène en amont de l'éclosion et en éclosoir permettant la pénétration d'*E.Coli* dans le sac vitellin des poussins nouvellement éclos. (Villate, 2001).

La mortalité peut être importante, l'ombilic est oedémateux et inflammé, avec présence de croutes. Le sac vitellin est mal résorbé, avec une paroi opacifiée et congestionnée, un contenu verdâtre à jaunâtre et de consistance aqueuse à grumeleuse. Une aérosacculite et une péricardite sont quelques fois associées à ce tableau. (Guerin et Boissieu, 2007).

3.6. Cellulite

La cellulite appelée quelque fois dermatite nécrotique est une maladie de surpeuplement et de mauvaise hygiène issue d'un processus infectieux ou inflammatoire entraînant un exsudat inflammatoire caséux et l'apparition de plaques de fibrine sous la peau située dans la partie inférieure de l'abdomen et sur les cuisses, n'entraîne ni mortalité ni signes cliniques mais est responsable de pertes économiques substantielles, notamment à l'abattoir (carcasse saisie). (Guerin, Boissieu, 2007).

E. Coli est la bactérie prédominante, par contre on peut retrouver d'autres bactéries mais une petite quantité. O78K80 est le sérotype le plus fréquemment impliqué dans l'inflammation des cellules, les sérotypes O1 et O2 sont parmi les organismes les plus régulièrement isolés des lésions subcutanées. (La Ragione, Woodward. 2002).

3.7. Arthrite, Synovite

Les colibacilloses peuvent surinfecter des maladies primitives :

- Arthrite à réovirus (poulet, Canada).

- Synovite à mycoplasme synoviae, ou être inoculés par des blessures ou traumatismes. (Villate, 2001).

Les isolats d'*E. Coli* ont été retrouvés dans les infections articulaires des poulets et des dindes. Les lésions sont reproduites après l'inoculation intraveineuse du bouillon de culture isolats. Les synovites sont fréquemment produites suite à une septicémie. Plusieurs oiseaux guérissent en une semaine, par contre certains restent chroniquement infectés et deviennent par la suite maigre. (65-66-67)

3.8. Granulomes à *Escherichia coli* "Hjarres's disease"

Appelée aussi "la coligranulomatose", c'est une forme particulière, son expression est retrouvée à l'âge adulte et associée à des mortalités sporadiques. (La Ragione, Woodward, 2002).

C'est une affection du tube digestif des gallinacés se traduisant par la formation de granulomes dans le foie, le caecum, le duodénum et le mésentère de la poule. Il y a très rarement atteinte de la rate. (Villate, 2001).

Les animaux présentent peu de symptômes avant leur mort, qui peut être élevée (75%), si ce n'est qu'un abattement. La mort survient suite à la rupture de ces granulomes. (Stordeur, Mainil; 2001).

4. Epidémiologie des infections à *Escherichia coli*

Toutes les espèces aviaires sont sensibles à *E. coli*. C'est une infection extrêmement fréquente et de répartition mondiale.

Certains facteurs prédisposent les volailles à la maladie. Le jeune âge (système immunitaire immature, absence de d'effet barrière de la flore intestinale incomplète), le stress, un taux élevé d'ammoniac, une baisse de la température, des infections concomitantes (mycoplasme, parvovirus, paramyxovirus, virus sauvages et vaccinaux), favorisant la colibacillose.(Dozois et al, 1994).

Le plus souvent, *Escherichia coli*, doit être plutôt considéré comme un agent de surinfection que comme la cause primaire d'une maladie.

Les *E. coli* peuvent survivre dans un milieu sec ainsi que dans la poussière pendant de longues périodes, cependant, il a été démontré qu'une litière mouillée peut réduire l'incidence de la colibacillose. Ceci peut être du à la réduction de nombre de particules bactériennes dans l'atmosphère conduisant à la réduction du risque d'inhalation de ces particules par l'organisme. La vaccination contre la mycoplasmosse peut aussi réduire l'incidence de la colibacillose. (La Ragione, Woodward, 2002).

E. coli est un hôte normal du tractus digestif des volailles. Il est donc disséminé par les fèces des oiseaux malades ou porteurs et les oiseaux sont constamment exposés (par des malades ou des porteurs, des rongeurs, des insectes, des oiseaux sauvages, l'eau, des poussières, l'environnement). Dès que la résistance d'un oiseau est affaiblie, les souches pathogènes ou non peuvent se développer. *E. coli* présent dans les intestins, les voies nasales, les sacs aériens ou le tractus génital peut être une source latente d'infection. Certaines souches pathogènes peuvent infecter l'oiseau normal. (Guerin, Boissieu, 2007).

*** Voies de contamination**

La contamination est essentiellement par voie aérienne par des aérosols. Le délitement des fientes sèches et de la litière provoque de véritables aérosols des bactéries qui seront inhalées par les oiseaux. Les sacs aériens contaminés peuvent prolonger l'infection aux organes génitaux (ovaire, utérus) par simple contact. Certaines souches intestinales banales provoquent des infections après entérite.

La transmission verticale directe à partir de l'ovaire ou de l'oviducte infecté est possible mais rare. La voie primordiale de contamination des les poussins est la voie digestive puis fixation sur l'arbre respiratoire (ingestion d'eau contaminée). (Villate, 2001).

La transmission de souches pathogènes via l'œuf est aussi très fréquente et responsable d'un taux important de mortalité chez le jeune poussin. La source majeure d'infection de l'œuf semble être la contamination fécale de sa surface lors de la ponte (le passage dans le cloaque ou en tombant sur une litière souillée) avec, ensuite, une transmission à l'ensemble du lot après éclosion. (Dho Moulin, Faibrother, 1999).

5. Pathogénie des infections dues aux souches APEC

La reproduction expérimentale de la colibacillose chez la volaille a permis de montrer que la porte d'entrée pour les souches APEC dans l'organisme des volailles est le tractus respiratoire.

La pathogénie des infections dues aux souches APEC a été largement étudiée afin de connaître les mécanismes exacts impliqués dedans. Elle peut être schématisée de la manière suivante:

5.1. Colonisation du tractus respiratoire

Elle est précédée par l'adhésion et la fixation des souches bactériennes à la muqueuse respiratoire grâce à des pilis et des adhésines (permettant la fixation des bactéries sur les récepteurs membranaires).

Les fimbriae de type 1 et P sont respectivement impliqués dans la colonisation initiale du tractus respiratoire supérieur et dans des étapes systémiques subséquentes durant le

développement de la septicémie associée aux *E. coli* chez le poulet (Pourbakhsh et al., 1997a; Pourbakhsh et al., 1997b) .

Il a été démontré que les cellules responsables de la défense sont absentes au niveau des sacs aériens et de la région des échanges gazeux ce qui les obligent à faire appel aux neutrophiles provenant d'influx inflammatoire pour constituer la première ligne de défense cellulaire. C'est pour cette raison, ces régions sont vulnérables à la colonisation l'invasion bactérienne. (Dho Moulin, Fairbrother, 1999).

5.2. Pénétration de la muqueuse

Les souches virulentes d'origine aviaire ne sont pas capables de traverser seules la muqueuse respiratoire, le passage de ces souches nécessite la présence d'autres agents infectieux (mycoplasmes, virus,...) ou physico-chimiques (forte concentration d'ammoniac, poussières) qui provoquent des altérations de la muqueuse respiratoire pour permettre aux *E. Coli* de franchir ce tissu. (Bree, Dho-moulin et Lafont, 1989).

5.3. Dissémination dans l'organisme

La multiplication des bactéries dans le sang et les organes internes fait intervenir des mécanismes permettant d'une part de détruire les défenses de l'organisme et d'autre part d'acquérir les nutriments nécessaires.

Une fois dans le courant sanguin, les APEC font face à de sévères dangers: opsonisation par les composant C3b du complément, l'activité bactéricide de la membrane du complexe d'attaque (MAC) formé par les composants du système complément (C5b, C6, C7, C8 et C9) et la phagocytose par les neutrophiles et les macrophages. La présence d'antigènes O et K à la surface de la bactérie permet aux souches APEC de se défendre en évitant l'opsonisation et la phagocytose.

Plusieurs études ont montré qu'une minorité de souches APEC produisent différentes cytotoxines (cytotoxic necrotising factor 1, shiga toxine, *E. coli* vacuolating factor, cytolethal distending toxin) mais les dommages cellulaires et tissulaires qui en résultent ne sont pas encore élucidés.

La faible concentration de fer libre dans l'organisme empêche la survie et la multiplication des bactéries. La plupart des souches septicémiques d'*E. Coli* produisent un sidérophore, l'aérobactine qui leur permet d'acquérir le fer nécessaire. Un autre mécanisme peut intervenir et est celui de la production d'une hémolysine qui provoque la lyse des érythrocytes et la libération du fer à partir de l'hémoglobine. (J. Mainil, 2004).

6. DIAGNOSTIC

Le diagnostic de la colibacillose aviaire repose d'abord sur le tableau clinique et la présence de lésions telles que de l'aérosacculite, parfois accompagnée de périhépatite

et de péricardite. Il faut cependant garder à l'esprit que ces lésions peuvent aussi être engendrées par d'autres agents pathogènes.

6.1. Diagnostic différentiel

L'aérosacculite peut être la conséquence d'une infection à *Mycoplasma* spp. Ou *Chlamydia* spp. (Dinde), la péricardite peut être liée à des infections par *Salmonella* spp. ou *Pasteurella* spp. Les autres manifestations de la colibacillose peuvent aussi avoir des étiologies variées. Ainsi, des organismes tels que *Aerobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., ou *Enterococcus* spp. sont fréquemment isolés de la membrane vitelline en culture pure. (Gross et al, 1991).

Les septicémies aiguës peuvent résulter d'infections à *Pasteurella* spp., *Staphylococcus* spp., ou *Streptococcus* spp. Les synovites ou arthrites peuvent être la conséquence d'infections virales, à *Mycoplasma synoviae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. ou *Streptobacillus moniliformis*. Les granulomes résultent parfois d'infections virales (maladies de Marek) ou bactériennes (*Mycobacterium avium*, bactéries anaérobies telles que *Eubacterium* ou *Bacteroides*). (Stordeur, Mainil, 2001).

6.2. Isolement et identification

En présence de lésions évoquant la colibacillose, seuls un isolement et une identification de l'agent responsable sur base de réactions biochimiques permettront de confirmer la maladie. Les prélèvements seront réalisés à partir du sang du cœur et des tissus affectés: foie, rate, sac péricardique, en évitant toute contamination par le contenu intestinal. Les prélèvements serontensemencés en milieux appropriés (bleu d'éosine méthylène ou EMB, MacConkey agar ou Drigalski Agar). Les indicateurs biochimiques sont la production d'indole, la fermentation du glucose en milieu aérobie (avec dégagement de gaz), la production β -galactosidase, l'absence de production de sulfite d'hydrogène et d'uréase, ainsi que la non utilisation du citrate comme source de carbone. (Dho-Moulin, Fairbrother, 1999).

L'appartenance à des sérotypes reconnus pathogènes (O1, O2 et O78) et la présence d'un certain nombre de facteurs de virulence bien définis (fimbriae P, l'aérobactine et la protéine Tsh) permettront de confirmer le diagnostic. La sérotypie et la recherche du système de l'aérobactine peuvent être réalisées par des méthodes immunologiques. Les autres facteurs de virulence étant recherchés par des méthodes de biologie moléculaire telles que la PCR ou l'hybridation sur colonies. (Blanco et al, 1997).

7. Traitement et prophylaxie

7.1. Traitement

A l'heure actuelle, celui-ci repose encore essentiellement sur l'antibiothérapie. Les antibiotiques les plus utilisés sont les quinolones, les sulfamides, les tétracyclines, les aminosides et les bêta-lactamines. (Gross et al, 1994)

Il faut rappeler que certains antibiotiques, comme les aminosides (Néomycine, Gentamycine, Kanamycine, streptomycine), les polypeptides (la colistine) et les aminocyclitols (spectinomycine, framycétine), ne franchissent pas la barrière intestinale: ils sont donc inactifs s'ils sont administrés par voie orale sur les colibacilles systémiques, mais ils peuvent cependant aider à la maîtrise des colibacilles pathogènes respiratoires ou autres encore en situation intestinale. (Didier Villatae, 2001).

Toutefois, il faut rester prudent quant à l'utilisation des antibiotiques car de récentes études menées des souches APEC ont montré que le nombre de souches résistantes à ces divers antibiotiques allait en s'accroissant; il est donc plus que jamais nécessaire de réaliser un antibiogramme avant ou en parallèle au traitement empirique. Des traitements alternatifs aux antibiotiques existent aussi, comme l'acide ascorbique qui contribue à intensifier l'activité des phagocytes. (Payne; 1988).

7.2. Prophylaxie

* Prophylaxie sanitaire

Elle vise à lutter contre toutes les sources de contamination, les vecteurs animés et inanimés, afin de réduire les facteurs prédisposants aux infections respiratoires. Les rongeurs commensaux des volailles sont des réservoirs de colibacilles virtuellement pathogènes et doivent être systématiquement combattus. De la même façon les insectes parasite, coprophages, nécrophages sont des hôtes virtuels contre lesquels il faut lutter.

La qualité de l'eau de boisson est aussi très importante, il faut veiller à la changer très régulièrement. Des mesures générales de séparation des animaux par classe d'âge et par espèce, de désinfection, de nettoyage, de désinsectisation et de vide sanitaire entre chaque lot sont des mesures de prévention indispensables dans le cadre de lutte contre la colibacillose. (Didier Villatae; 2001).

Une autre méthode consiste à réduire et à contrôler les contaminations fécales par des sérogroupes pathogènes par exemple, en réduisant la transmission des E. coli de la poule au poussin par une fumigation des œufs dans les 2 heures qui suivent la ponte et en écartant ceux en mauvais état ou présentant des souillures fécales à leur surface.

Les infections du tractus respiratoire des animaux peuvent être réduites en garantissant des animaux indemnes de mycoplasmes et en contrôlant certains facteurs environnementaux comme l'humidité, la ventilation, la teneur en poussière et en ammoniac dan l'air. Une vaccination contre les affections respiratoires d'origine virale est aussi envisagée. (Dho-Moulin; Fairbrother; 1999).

* Prophylaxie médicale

A l'heure actuelle, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire à part les vaccins inactivés contre les sérotypes O₂K1 et O₇₈K80 et O₇₈ chez les dindes. Cependant, même si un certain nombre d'essais vaccinaux ont été effectués à l'aide de souches atténuées en modèles expérimentaux et couronnés de succès avec des souches homologues, ils n'en restent pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues de terrain. L'administration d'un sérum homologue hyper-immu anti E. Coli (O₇₈ : K₈₀ : F1) à des dindes de 18 jours les protège vis à vis de cette souche pathogène inoculée par aérosol ou par voie intraveineuse (Arp, 1981) ,103 suggérant un rôle protecteur des anticorps par opsonisation des phagocytes. (Dho-Moulin, Fairbrother, 1999).

L'essentiel des anticorps maternels est constitué par les immunoglobulines G concentrées dans le jaune d'œuf. Complètement absorbés par le poussin peu de temps après l'éclosion, les anticorps sériques atteignent une concentration plasmatique maximale 3 jours après, laquelle décroît régulièrement jusqu'à l'âge de 2 à 3 semaines pendant lesquelles l'immunisation passive peut protéger les oiseaux (en fonction du titre initial) et la vaccination est déconseillée par voie de conséquence. **(105)**

Différents types de vaccin contre la colibacillose ont été préparés et testés expérimentalement afin d'évaluer le niveau de protection des animaux à long cycle de production (pondeuses, reproducteurs) et des tout jeunes oiseaux, particulièrement sensible, par le biais de l'immunité maternelle. La vaccination des poules à l'âge de 6 mois confère une protection efficace de leur descendance vis-à-vis d'une épreuve virulente (souches homologues) pendant les quinze premiers jours de leur vie. La plupart des vaccins testés sont préparés à partir de bactéries inactivées ou vésicules membranaires. (Pourbakhsh et al, 1997).

Enfin, les systèmes de vaccination employant la technique du spray/nébulisation chez les poussins d'un jour ne sont peut être les méthodes les plus appropriées pour empêcher la propagation des colibacilles par voie aérienne. (Stordeur; Mainil; 2001).

Dans certains cas une antibioprévention réfléchie et adaptée peut être utile.

Chapitre III : Antibiotiques et antibioresistance

8. Les antibiotiques

Les antibiotiques représentent, de très loin, la classe des médicaments la plus employée à l'heure actuelle, en médecine humaine comme en médecine vétérinaire. Le terme "antibiothérapie" traduit cet usage très important, qui, s'il est justifié du fait de l'efficacité remarquable de ces composés dans la lutte contre les maladies infectieuses, doit s'effectuer de manière rationnelle.

L'utilisation des antibiotiques doit donc répondre à un certain nombre de règles qui découlent de la connaissance de ces substances, de leurs caractères physico-chimiques essentiels et surtout de leurs propriétés biologiques dans l'organisme; leur devenir dans l'organisme (leur pharmacocinétique), leur activité antibactérienne, leurs effets toxiques ou secondaires éventuels. (Fontaine, VEDEMECUM, 1993).

8.1. Les antibiotiques utilisés en espèce aviaire

En élevage de rente les antibiotiques ont tout d'abord une utilisation thérapeutique visant l'éradication d'une infection présente, ou la prévention d'une infection possible, à l'occasion d'un transport, d'une vaccination ou d'un stress. La voie d'administration la plus rapide pour traiter un grand nombre d'animaux, est l'eau de boisson ou l'incorporation dans l'aliment. (Barka; 2002)

A coté de cette utilisation thérapeutique, on trouve une utilisation propre à l'élevage de rente: l'usage zootechnique (non thérapeutique). Les animaux reçoivent de manière régulière et prolongée des doses non thérapeutiques d'antibiotiques pour favoriser leur croissance et améliorer la conversion alimentaire.

Dans le monde, 90% des antibiotiques produits et destinés aux animaux (2700.t/an) seraient distribués par l'aliment tous usages confondus (facteurs de croissance, préventif et curatif). Ils sont utilisés à 20% chez la volaille. On peut considérer que la consommation globale d'antibiotiques atteindrait au maximum 116t dans la filière volaille.

On estime que la supplémentation des aliments avec un additif de croissance (antibiotique ou chimique) concerne: (Devie et al; 2005).

- de façon systématique : dindons (96%).
- de façon largement majoritaire : poulets de chair (68%).
- de façon significativement minoritaire : poules pondeuses (20%).

<i>Famille</i>	<i>Antibiotique</i>	<i>Utilisation</i>
Aminoglycosides	Gentamycine Neomycine Streptomycine Spectinomycine	Préventive Curative Curative Curative
Bacitracine	Bacitracine zinc *	Préventive
Betalactamines	Amoxicilline Penicilline	Curative Curative
Cephalosporines	Ceftiofur	Préventive
Macrolides	Erythromycine Lincomycine Josamycine Tylosine *	Curative Curative Curative Curative
Quinolones	Enrofloxacin Acide oxolinique Fluméquine Sarafloxacin	Curative Curative Curative Curative
Streptogramine	Virginiamycine *	Préventive
Sulfamides	Triméthoprime-sulfa Sulfaquinoxaline Sulfadimidine	Curative Curative Curative
Tétracyclines	Tétracycline Chlortétracycline Oxytétracycline	Curative Curative Curative
ATB combinés	Lincomycine/spectinomycine	Curative

Tableau01 : Antibiotiques utilisés en espèce aviaire dans le monde (Baka; 2002, Nadeau et al).

- : facteurs de croissance
- ATB : antibiotique

8.2. L'antibiorésistance

8.2.1. Définition

Pour tout antibiotique, certaines espèces ou souches bactériennes sont ou peuvent devenir insensible à l'action anti-bactérienne.

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'une souche bactérienne de survivre à l'exposition à une concentration élevée d'un antibiotique spécifique. Il n'est pas rare qu'une lignée bactérienne acquière de la résistance à un certain nombre d'antibiotiques, mais elle finira généralement par succomber à l'un de ceux qui existent. Cependant, aujourd'hui, des lignées bactériennes manifestent de la résistance à plusieurs antibiotiques et bien des gens craignent

que ces lignées et d'autres finissent par développer une résistance aux derniers antibiotiques efficaces qui restent.

Des travaux scientifiques récents démontrent la présence de bactéries porteuses de résistances dans certains produits laitiers et carnés, et suggèrent que les antibiotiques utilisés dans l'alimentation animale ou lors de traitements vétérinaires pourraient en être la cause. (Sonya NORRIS; 1999).

8.2.2. Origine de l'antibioresistance

a. Résistance naturelle "innée"

Elle concerne en général une espèce bactérienne et est définitive; elle délimite le spectre d'activité antibactérienne de l'antibiotique considéré.

Les bacilles à Gram négatif (et notamment les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*) sont naturellement résistants, le plus souvent à bas niveau, aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, novobiocine, vancomycine) car ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi.

Certaines espèces (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus cereus*, *Nocardia* spp., *Mycobacterium* spp., ...) produisent naturellement des bêta-lactamases. (J.P Euzéby).

b. Résistance acquise

C'est une propriété nouvelle qui apparaît chez les espèces bactériennes jusqu'alors sensibles aux antibiotiques, cette résistance correspondant à une adaptation des bactéries aux antibiotiques.

Ces résistances acquises constituent l'un des plus graves problèmes de l'antibiothérapie, du fait de leur fréquence de plus en plus grande, et de la possibilité de la transmission à l'homme des germes résistants.

Elles peuvent être dues à:

b.1. Mutation chromosomique: assez peu fréquentes (moins de 10% des cas), elles se traduisent en général par une modification des sites de fixation et d'action des antibiotiques dans la bactérie. Ce type de résistance est stable, transmis à la progénie mais non transmissible horizontalement à d'autres bactéries. Le plus souvent, une mutation entraîne la résistance pour un antibiotique ou des antibiotiques appartenant à la même famille. (Poyart. C., 2002).

b.2. Acquisition de gènes de résistance: cette résistance est due à l'acquisition de d'information génétique exogène portée par des plasmides (ADN extra-chromosomique) ou des

transposons pouvant être transférées d'une bactérie à une autre, elle concerne la quasi-totalité des antibiotiques et correspond à la majorité des cas isolés (90% des cas). Cette résistance entraîne la synthèse par les bactéries réceptrices de ce matériel génétique de protéines nouvelles qui vont soit: modifier le système de transport de l'antibiotique (efflux), inactiver l'antibiotique (enzyme telles que la bêta-lactamase), ou bien modifier la cible de l'antibiotique. (Poyart. C., 2002).

*** Mécanisme biochimiques de la résistance acquise**

Les principaux mécanismes de résistances aux antibiotiques sont donc : l'imperméabilité, l'inactivation de l'antibiotique, l'altération de la cible cellulaire de l'antibiotique, le reflux actif (efflux) de l'antibiotique.

Mécanismes	Famille d'antibiotique
Imperméabilité	B-lactamines, macrolides, tétracy-clines, quinolones, fosfomycine, chloramphénicol.....
Efflux	β-Lactamines Macrolides Lincosamides Tétracyclines
Inactivation	β-Lactamines Aminoglycosides Aminoglycosides Aminoglycosides Macrolides Lincosamides Streptogramines Chloramphénicol
Affinité	Aminoglycosides Macrolides Quinolones-Fluoroquinolones Tétracyclines
Substitution	β-Lactamines Glycopeptides Sulfamides Triméthoprim

Tableau 02 : Mécanisme biochimiques de la résistance acquise des familles antibiotique

8.2.3. L'état de l'antibiorésistance dans le monde

Une étude Saoudienne réalisée en 1999 par AL-Ghamdi et al sur des souches d'*E. coli* isolées des fientes de poulets, montre qu'il y a une grande résistance à l'ampicilline, gentamycine, spectinomycine, tétracycline et triméthoprime + sulphaméthoxazole avec des pourcentages variant de 57 à 99%.

Cette même étude révèle aussi une multirésistance de 77,4% de ces souches aux antibiotiques cités.

EN 1993 au Canada sur 44 *E. coli* isolées de poules atteintes de colibacilloses, 39% des souches était inagglutinables avec 14 sérotypes de type O, 10 souches appartenaient aux sérotypes O1, O2 et O78 et présentaient de fortes résistances au tétracycline, kanamycine, néomycine, céphalothine, streptomycine et érythromycine. (Allan et al, 1993).

En Afrique de sud (1198) , Manie et al ont mis en évidence que l'addition de facteurs de croissance dans le but d'avoir des poulets avec des poids uniformes, entraînant des résistances à divers antibiotiques et les infections aviaires sont de plus en plus difficiles à traiter.

Une autre étude menée aux Etats-Unis en 2005 par Zhoo et al, sur 59 souches d' *E. coli*, a prouvé que 12% des souches appartenait au sérotype O78 et 60% des souches était non typables, le reste appartenait à 20 sérotypes différents. Cette enquête révèle aussi une antibiorésistance au tétracycline (80%), streptomycine (80%), gentamycine (69%), acide nalidixique (59%).

Dans une autre enquête réalisée en Iran en 2006 par Zahraei Salehi et al sur 50 souche d'*E. coli* isolées de poules septicémiques, une grande résistance, é été noté, à l'acide nalidixique (100%), lincomycine (100%), erythromycine (97%), oxytétracycline(95%), chlortétracycline (95%), tétracycline (94%), fluméquine (94%),doxycycline (88%), néomycine (81%), streptomycine (81%),triméthoprime- sulphaméthoxazole (80%), enrofloxacin (76%), ciprofloxacin (67%), chloramphénicol (67%), nitrofurantoin (56%), amoxicilline (53%) et ampicilline (47%). Aucune résistance n'a été observée à la gentamycine, et la colistine.

Etude expérimentale

Matériels et méthodes

MATERIELS ET METHODES

I Lieu de travail:

Notre travail a été réalisé au niveau du service de pathologie aviaire et du laboratoire de diagnostic de l'institut des sciences vétérinaires de TIARET, durant la période allant de mois de janvier au mois de mars 2022.

II Animaux

Les poulets suspects de colibacillose, âgés entre 4 à 25 jours et provenant de différents élevages de poulet de chair, ont été acheminés vers le service de pathologie aviaire afin de réaliser des autopsies. Des examens bactériologiques ont été effectués sur les organes prélevés au niveau de laboratoire de diagnostic.

III Matériels

1. Milieux de culture

- Gélose Mac Conkey : est un milieu à la fois sélectif et différentiel utilisé pour l'isolement des entérobactéries, il permet de faire la distinction entre les bactéries suivant leur aptitude à fermenter ou non le lactose.
- Gélose nutritive : milieu qui permet la culture des bactéries non exigeantes.
- Gélose Mueller-Hinton : est utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme.

2. Produits de laboratoire

- Colorants : violet de gentiane, fuchsine de ziehl.
- Lugol.
- Alcool 70°.
- Eau distillée.
- Eau physiologique 0.9 %.
- Réactif Kovacs, bio Mérieux ; France ;
- Réactif TDA, bio Mérieux ; France ;
- Réactif VP 1, VP2 ; institut pasteur d'Algérie ;
- Disques d'antibiotiques.
- Galerie Api 20 E.

3. Matériel d'autopsie

Le matériel utilisé pour l'autopsie était composé d'instruments métalliques faciles à désinfecter : couteaux, pince à dent de souris, ciseaux fins et forts, lames bistouris stériles, sonde cannelée, et un appareil photographique numérique.

Le matériel de prélèvement est constitué de boîtes de pétri stériles.

IV. Méthodes

- **Examen clinique des poulets malades**
- **Autopsie et réalisation des prélèvements (coeur, foie , rate)**
- **Isolement bactériologique**

•Milieu de culture: la gélose Mac Conkey.Incubation 37°C/24 heures

- **Purification des isolats**

•Milieu de culture: la gélose Mac Conkey.Incubation 37°C/24heures

- **Analyse préliminaire des isolats**

Coloration de Gram

- **Repiquage sur la gélose nutritive**

- **Identification biochimique par galerie api 20 E**

- **Antibiogramme**

1. Examen clinique des poulets malades

L'examen clinique des volailles a consisté à observer les poulets malades lors des consultations cliniques.

2. Autopsie et réalisation des prélèvements

2.1. Autopsie

L'autopsie a été réalisée sur des cadavres suite à une mort naturelle ou à l'euthanasie des animaux malades. L'euthanasie des animaux s'est faite par luxation de l'articulation atloïdo-occipitale. L'autopsie a été réalisée selon la procédure classique. Brièvement, elle a consisté à l'examen externe des cadavres, les incisions cutanées, l'ouverture des cavités (abdominale et thoracique), suivies par l'examen macroscopique proprement dit des organes, afin de détecter les éventuelles modifications lésionnelles :

a-Examen du tube digestif et de ses glandes annexes ;

b-Examen de du coeur et de l'appareil respiratoire ;

c-Examen de l'appareil génital et urinaire ;

d-Examen des organes hématolymphopoeitiques ;

e-Examen du système nerveux ;

f-Examen de l'appareil locomoteur.

Au cours de l'autopsie, les lésions pouvant faire suspecter une colibacillose aviaire ont été notées et photographiées.

2.2. Prélèvement des Organes

Le foie, le coeur, et la rate ont été prélevés sur les cadavres d'animaux autopsiés. Les prélèvements ont été réalisés dans des conditions aseptiques pour éviter la contamination. Les organes prélevés (foie, coeur, rate) ont été placés immédiatement dans des boîtes de Pétri stériles et acheminés au laboratoire de microbiologie de l'institut vétérinaire de Tiaret.

3. Isolement bactériologique

L'isolement direct a été effectué aseptiquement à partir des organes précités. La technique a consisté à flamber l'organe pour éliminer les germes de contamination suivie par une incision à l'aide d'un bistouri stérile, le sang a été récolté par écouvillonnage pour être ensuite ensemencé directement sur la gélose Mac Conkey. Les différentes boîtes ensemencées ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures.

4. Purification des isolats

Après l'incubation, Les colonies apparues ont été observées sur le plan macroscopique puis une colonie rose présumée d'*E. coli* a été purifiée par repiquage selon la méthode de stries sur le même milieu d'isolement.

Après 24 heures d'incubation à 37 °C, l'isolat ainsi obtenu a été ensuite ensemencé dans des boites de pétri contenant de la gélose nutritive pour une utilisation ultérieure.

Les différentes boites ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

5. identifications des isolats

5.1. Analyses préliminaires des isolats

5.1.1. Observation microscopique (coloration de Gram) :

La coloration de Gram a été effectuée selon le protocole décrit par Prescott *et al.* (2003) :

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre.
- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par
- Coloration primaire : Couvrir le frottis avec du cristal violet et laisser agir pendant 60 secondes ; Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée.
- Mordançage au Lugol (solution d'iode iodo-iodurée) : recouvrir le frottis de lugol et
- Décoloration à l'alcool : Rincer immédiatement le frottis à l'alcool en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette ; Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.

Contre-coloration à la fuchsine : recouvrir le Frottis de fuchsine et laisser agir pendant 15 secondes ; Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes puis séchage entre deux feuilles de papier essuie-tout.

- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope Optique à un fort grossissement (à l'objectif X 100). Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

5.2. Identification biochimique par galerie Api 20E

- La galerie Api 20 E

Les cultures présentant des coccobacilles à Gram négatif, oxydase négative ont été identifiées à l'aide de la Galerie API 20 E.

La Galerie API 20 E est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif, dont les entérobactéries.

Elle comporte 20 micro tubes contenant des substrats sous forme déshydratée, il s'agit essentiellement de :

- ONPG, recherche de la β -galactosidase.
- LDC, ODC, ADH : le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux entérobactéries est souvent facilité par la recherche de la Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC) et Arginine dihydrolase (ADH).

- Citrate de Simmons (CIT) : permet la recherche de l'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone.
- H₂S : recherche de la production de sulfure d'hydrogène
- URE : recherche d'une uréase.
- TDA : recherche du tryptophane désaminase.
- IND : recherche de la production d'indole
- VP : réaction de Voges-Proskauer, la réaction positive se caractérise par la présence de l'acétyl-méthyl carbinol (acétoïne), ce composé est un produit de dégradation de l'acide pyruvique.
- GEL : recherche de la production d'une gélatinase.
- GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA : l'oxydation ou la fermentation des carbohydrates.

Ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h-24h à 37°C°) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions est réalisée à l'aide du tableau de lecture.

Préparation de la Galerie API 20 E

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée ou déminéralisé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- Préparation de l'inoculum
- Utiliser un tube de 05 ml d'eau physiologique 0.85%, stérile sans additif
- A l'aide d'une pipette pasteur, prélever une colonie bien isolée à partir d'une culture jeune (18-24 heures) sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.
- Calibrer la densité optique (DO) de la suspension bactérienne obtenue avec un spectrophotomètre, à une DO de 0,08-0,1 à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à 10 8 UFC/ml. Cette suspension doit être inoculée extemporanément.
- Inoculation de la Galerie
- Remplir tubes et cupules des tests : CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne et avec la pipette ayant servi au prélèvement.
- Remplir uniquement les tubes et non les cupules des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine. Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 Heures.

• Lecture de la Galerie

Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h-24h à 37°C°) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture.

Noter sur la fiche des résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur **marron-rougeâtre** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.

Test IND : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs. Un anneau rose ou une couleur **rose** diffusant dans toute la cupule indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.

Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1(KOH) et VP 2 (alpha-naphtol). Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur **rose** ou **rouge** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration **rose** apparaissant après 10 minutes doit être considérée **négative**.

• **Détermination du profil numérique**

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupe de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique et l'identification est réalisée à l'aide du logiciel d'identification APIWEB.

6. Antibiogramme

L'étude des profils de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées a été effectuée par l'établissement d'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques), sur gélose Mueller-Hinton selon la méthode recommandée par l'OMS et répondant aux critères définis par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008) et standardisées depuis 1999 en médecine vétérinaire en Algérie.

- Technique

La gélose Mueller Hinton stérile doit être coulée dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm et séchées avant l'emploi.

- Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 h sur milieu gélosé non sélectif. 3 à 5 colonies bien distinctes sont suspendues dans l'eau physiologique 0.9 %, ensuite, la suspension est ajustée au standard 0.5 McFarland avec un spectrophotomètre à 625 nm qui correspond à une densité optique de 0.08 – 0.1. Donc, la suspension bactérienne contient approximativement $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ UFC/ml.

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

Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de la décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas par stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois et il faut
- pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

• **Application des disques d'antibiotiques**

Les disques d'antibiotiques correspondant ont été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée en appuyant légèrement.

Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques dans une boîte de 90 mm de diamètre.

Résultats et discussion

Autopsie :

L'autopsie des sujets a mis en évidence des lésions qui sont habituellement rencontrées lors de la colibacillose aviaire :

- Omphalite et péritonite (chez les poussins de moins d'une semaine).
- Aerosaculite, péricardite, périhépatite.

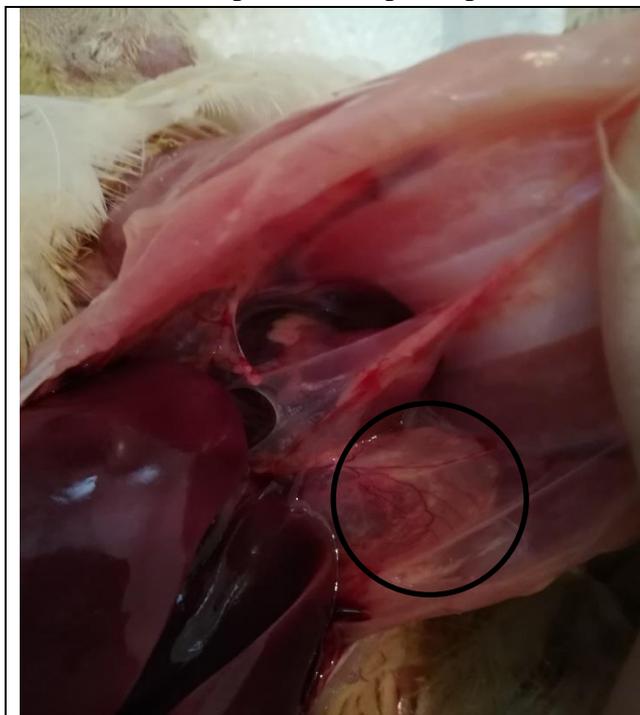


Figure N°01 : Aerosaculite.



Figure N°02 : Péricardite et Périhépatite fibrineuses

RESULTATS ET DISCUSSION

Antibiotiques	Nombre d isolats	Pourcentage de résistance
Amoxicilline + acide clavulanique	9	100%
Amoxicilline	9	100%
Néomycine	9	60%
Triméthoprime + sulfamethoxazole	9	100%
Tétracycline	9	80%
Acide nalidixique	9	100%
gentamycine	9	0%
ciprofloxacine	9	100%
chloramphénicol	9	20%

Tableau 03 :résultats de la antibiogramme des isolats récoltes

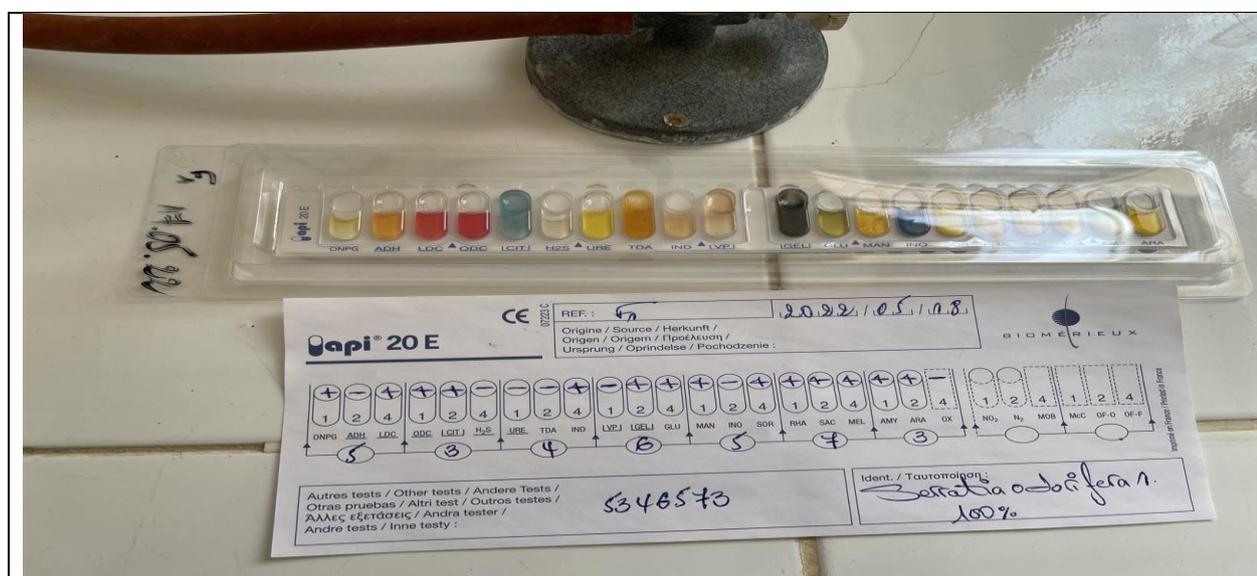


Figure N°03 : Profil biochimique d'*E.coli* sur Galerie Api 20E.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

Etude bactériologique :

à partir des échantillons étudiés, cinq (09) souches ont été isolées et identifiées comme étant *E. coli*.

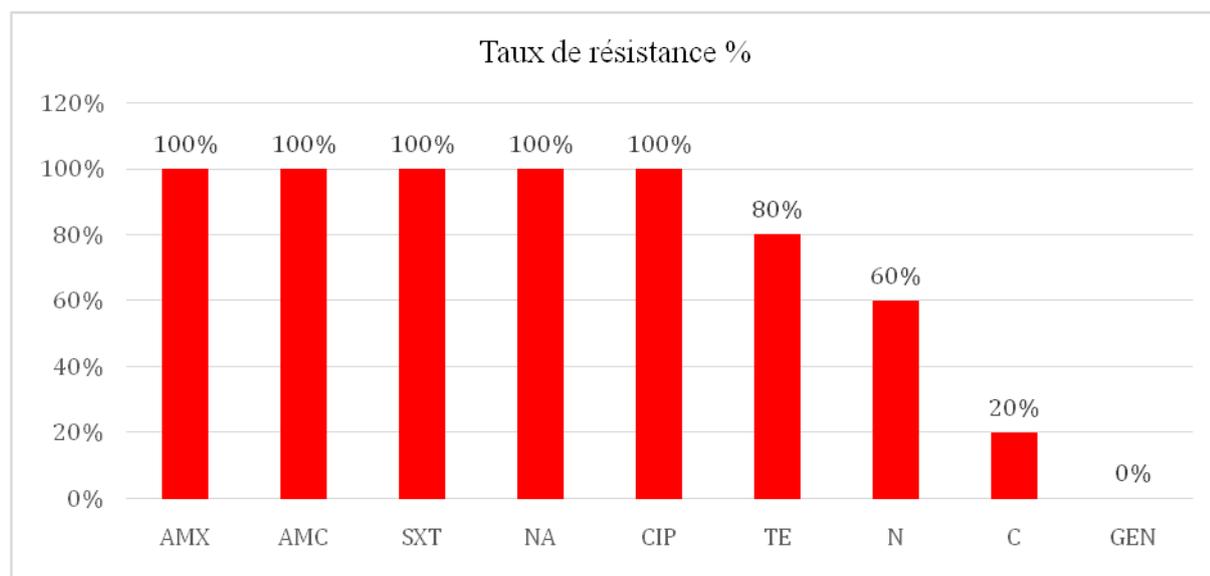


Figure N°04 : Taux de résistance aux antibiotiques.

L'étude de la sensibilité des souches d'*Escherichia coli* aux antibiotiques (Amoxicilline, Amoxicilline + acide clavulanique, Néomycine, Gentamycine, Tétracyclines, triméthoprim-sulfaméthoxazole, acide nalidixique, ciprofloxacine, chloramphénicol) a révélé les taux de résistance suivants :

L'amoxicilline (100%), l'amoxicilline/acide clavulanique (100 %), tétracyclines (80 %), l'acide nalidixique (100 %), ciprofloxacine (100 %), Triméthoprim+Sulfaméthoxazole (100 %), la Néomycine (60 %), le chloramphénicol (20 %), gentamycine (0 %).

Discussion :

L'infection du sac vitellin est parmi les principales causes de mortalité chez les poussins nouvellement éclos.

La contamination de la membrane vitelline, se fait essentiellement lors de la ponte, au passage de celui-ci par le cloaque. Les bactéries alors présentes dans les matières fécales de la poule viennent se déposer à la surface de l'oeuf. Ensuite, celles-ci pénètrent à travers les membranes coquillières et vont contaminer la membrane vitelline (Gross, 1994).

Les lésions du sac vitellin se traduisent par sa persistance au-delà du cinquième jour après éclosion associée à une congestion avec une forte dilatation des vaisseaux sanguins. Une modification du contenu sac vitellin est aussi observée.

Le passage de la bactérie dans la circulation sanguine engendre une septicémie caractérisée par une forte congestion de la carcasse.

d'après Barnes (2003), la colisepticémie est la forme la plus commune de la colibacillose aviaire. Elle se traduit par des lésions fibrineuses cardio-respiratoires et hépatiques.

Betalactamines :

Selon notre étude le taux de résistance à l'amoxicilline était de 100 % .ce résultat se rapprochent de ceux de Messaiet *al.*(2015)avec un taux de 89%.

Le taux de résistance obtenu vis-à-vis à l'association amoxicilline-acide clavulanique était de 100 % .Ce résultat est supérieur à celui obtenu par Benameur *et al.* en 2014 (92,1%).

Sulfamides et associés :

Le taux de résistance de 100 % a été enregistré vis-à-vis à l'association Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole qui nettement supérieur à celui rapporté par Hammoudi et Aggad (2008) qui a été de 42 % . Ceci pourrait être expliqué par l'usage excessif de cette molécule.

Quinolones :

Le taux de résistance enregistrés pour l'acide nalidixique et la ciprofloxacine était de 100% Nos résultats concordent avec ceux de de Benameur *et al.* (2016) avec des taux de résistance de 100% pour l'acide nalidixique, et 84,31 % pour l'enrofloxacine.

Tetracyclines

Le test de sensibilité a révélé un taux de résistance élevé de l'ordre de 80 %, ce résultat se rapproche de celui de Rahimi (2013) qui a obtenu un taux de résistance de 85,1% Ce taux élevé de résistance pourrait être dû au fait que cette antibiotique est parmi les antibiotiques les plus anciennement employés en pathologie aviaire.

Aminosides :

Un taux de résistance de l'ordre de 60 % a été enregistré vis-à-vis de la néomycine Ce résultat est supérieur à celui de Hammoudi et Aggad (2008) qui était de 40 % . Cette résistance élevée pourrait être expliqué par l'utilisation anarchique de cette molécule. Aucune résistance n'a été enregistré envers la gentamycine ce qui pourrait être expliqué par le fait que cette molécule n'est plus utilisé en thérapie aviaire en Algérie.

Conclusion

Conclusion :

Tous les isolats testés ont montré une résistance totale envers : l'amoxicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole, ciprofloxacine, l'acide nalidixique.

Des taux de résistance élevés ont été observés pour la tétracycline et la néomycine.

Un taux de résistance faible pour le chloramphénicol.

Toutes les souches testées ont montré une sensibilité totale envers la gentamycine.

Ces taux de résistance importants pourraient être expliqués par l'usage abusif des antibiotiques par les aviculteurs sans tenir compte de l'avis des vétérinaires.

Cette résistance peut être à l'origine d'échecs thérapeutiques au niveau des élevages avicoles ; ainsi que la sélection de souches bactériennes capables de se transmettre à l'homme en causant des problèmes sanitaires graves.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -

- 1) Al ghamidi ms., el morsy f, al mustafa zh, al ramadhan m, hanif m.1999. Antibiotic resistance of escherichia coli isolated from poultry workers, patients and chicken in the eastern province of saudi arabia. Trop. Med. Int. Health, 4: 278- 283.
- 2) Amara a., ziani z, bouzoubaa k.1995. Antibioresistance souches d'*escherichia coli* isolées au maroc avec des poulets coli. Vet. Microbiologique, 43, 325-330.
- 3) Angers., dho-moulin maryvonne, brée a., desautels c, fairbrother j. 1997. Abstracts of the 97th general meeting of the american society for microbiology, b 271, p.75.
- 4) Anjum a.d., sabri m.a. and iqbbal z. 1989. Hydropericarditis syndrome in broiler chickens in pakistan. Vet. Res. 124, 247-248.
- 5) Arpl h. 1982. Effect of passive immunisation *e. Coliinspeen* and leverof turkeys. Am. J. Vet. Res. 43(6), 1034-1040.
- 6) Auli a., and vaisanen, rhen v. 1986. Analysis of p. Fimbriae on *e.coli* o2, o4 and o6 strains by immunoprecipitation infect and immu. Vol 51:n2 618-620 avian dis. 1994, 38: 231-239.
- 7) Benameur,q., ben-mahdi, m.h., boutaiba,. B. M., tali-maamar,h., assaous, f., guettou, b., rahal,k.(2016) analysis of high levels of multidrug resistant *escherichia coli* from healthy broiler chickens in western algeria, african journal of microbiology research vol. 10(42), pp. 1792-1797.
- 8) Benameur,q., guemour,d., hammoudi,a., aoudia,h.,aggad,h., humblet, m. F.,saegerman,c.,(2014) antimicrobial resistance of *escherichia coli* isolated from chickens in west of algeria international journal of sciences: basic and applied research (ijsbar) (2014) volume 13, no 1, pp 366-370.
- 9) Benda j., allan, vandenhurk j. And potter a. 1993. Characterization of *e.coli* isolated from cases of avian colibacillosis. Can. Jour. Vet. 57: 146-151.
- 10) Berkhoff ha, and vinal a.c. 1986. Congo red medium to distinguish between invasive *e.coli* pathogenic for poultry. Avian dis. 30: 117-121.
- 11) Blanco j.e., blanco m., mora a., jansen w.h., garcia v., vazquez m.l. 1998.vet. Microbiol. 61, 229-235.
- 12) Blonco j., blanco, m., mora a. 1997. Prévalence de la résistance bactérienne aux quinolones et autres antimicrobiens chez les souches d'*escherichia coli* aviaire isolés de septicemic poulets sains et en espagne. J. Clin. Microbiol. 35(3): 2184-2185.
- 13) Bolin ca and jensen a.e. 1987. Passive immunization with antibodies against iron regulated outer membrane proteins protects turkeys from *escherichia coli* septicaemia. Infect. And imm. 55: 1239- 1242.
- 14) Bree anne., dho m, and lafont j.p.1989. Comparative infectivity for axenic and pecific pathogen free chickens of o2 *escherichia coli* strains with or without virulence factors avian dis. 33: 134-139.
- 15) Brugere picoux janne., 1993. Environnement et pathologie aviaire. Manuel de pathologie aviaire. Ed. France agricole, p 77-84.
- 16) Cessi d. 1979. Prophylaxis of *e.coli* infection in fowls with emulsified vaccines. Clin. Vet. 102: 270-278.

- 17) Charles d., dozois m., chanteloup n., vonne m. Dho moulin maryvonne, bree a. Desautels c. And fairbrother j. M. 1992. Bacterial colonization and in vivo expression of f1 (type1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic *e.coli*. Avian dis, 36: 504.
- 18) Cloud s.s., rosenberger jk, fries p.a., wilson ra. And odorem a. 1986. In vitro and in vivo characterization of avian *e.coli* i. Serotype. Metabolic activity and antibiotic sensitivity.avian dis. 39: 904-906.
- 19) Da silveira w.d., lancellotti, m., ferriera, a., solferini, v.n., de castro, a.f.p, stehling, e.g. & brocchi, m. 2003. Determination of the clonal structure of avian *escherichia coli* strains by isoenzyme and ribotyping. Journal of veterinary medicine series b, 50, 63-69.
- 20) De rosam d., ficken m.d, and barnes h.j. 1992. Acute airsacculitis in intreated and cyclophosphamide pretreated broiler chickens inoculated with *e.coli* or *e.coli* cell free culture filtrate. Vet. Path., 29: 68-78.
- 21) Deb jr., and harry eg. 1978. Laboratory trials with inactivated vaccines against *e.coli* o2 k2 infection in fowls. Res. Vet. Sci., 28, 102-105
- 22) Desautels c., martineau-doize b, fairbrotherj m. 1997. Microbiology pathogeny. 22, 331-341.
- 23) Devie p., divo l a., gilbert g., laurent s. 2005. Les antibiotiques dans l'alimentation animale. Vet. Res., 69; 206-209.
- 24) Dho moulin maryvonne, et fairbrother j.m. 1999. Aviaire pathogène d'*escherichia coli* (apec). Vet. Res., 30, 299-316.
- 25) Dho moulin maryvonne, lafont j.p. 1982. *E.coli* colonization of the trachea in poultry. Comparison of virulent and avirulent strains in gnotoxenic chickens. Avian dis., 26, 787-797.
- 26) Dho-moulin maryvonne, van den bosch j.f., girardeau j.p., bree a., barat t., lafont j.p. 1990. Surface antigens from *escherichia coli* o2 and o78 strain s of avian origin. Infect. Immun. 58, 740-745.
- 27) Dho-moulin maryvonne. 1993. *Les escherichia coli* pathogènes des volailles. Ann. Méd. Vét., 137, 353-357.
- 28) Dozois c.m., dho-moulin maryvonne, bree a., fairbrother j.m., desautels c., curtis iii r. 2000. Relationship between the tsh autotransporter and pathogenicity of avian *escherichia coli* and localization and analysis of the tsh genetic region. Infect. Immun. 68, 4145-4154.
- 29) Dozois c.m., fairbrother j.m., harel j. And basse m.1990. Pap and pil related dna sequence and other virulence determinants associated with *e. Coli* isolated from septicemic chickens and turkeys. Infec and immu. 60: 2648-2656.
- 30) Dozois c.m., fairbrother j.m., harel j., bossé m. 1992. Infect. Immun., 60, 2648-2656.
- 31) Droual r., chin p.r. and rezvani m.1996. Synovitis, osteomyelitis and green liver in turkeys associated with *e.coli*. Avian dis. 40, 417-424.

- 32) Emery d.a., nagaraja k.v., shaw d.p.1994. Newman j.a and white d.g. 1994. Virulence factor of *escherichia coli* associated with colisepticemia in chickens and turkeys. 38: 231-239.
- 33) Euzeby. J. P., 1992. Résistance aux antibiotiques. Abrégé de bactériologie générale et médicale a l'usage des étudiants de l'école nationale vétérinaire de toulouse. 75; 301-304
- 34) Fedee m.r. 1998. Relations chip of structure and function of the avian respiratory. Poultry science. 77, 1130-1138.
- 35) Fernande a, .lara c., puelo r., gomez g. 1998. Efficacy of phosphomycinin de control of *escherichia coli* chickens. Res. Vet. Sci., 65; 201-204.
- 36) Fernandez a., gasquez a., mendez a., mozos e. And jover a.1986. Morphopathology of the adenohypophyse of chickens in shock induced by *escherichia coli*. Avian dis. 30, 247-254.
- 37) Ferron a., 1992. *Escherichia coli*, in bactériologie médicale a l'usage des étudiants en médecine. Editions c et r. La madeleine. 47, 155-156
- 38) Filali, e., bel, j. G., el houdfi, m. Huggins, m. B., coo, j. K. A. 1988. La résistance aux antibiotiques des souches d'*escherichia coli* isolées au maroc. Comp. Immun. Microbiologique. Infect. Dis. 11, 121-124.
- 39) Fontaine m. 1993. Vade-mecum du vétérinaire. 15^{ème} ed. Vo1 et 3, 116-117.
- 40) Giovanardi e., campagnari l., sperati ruffoni, ortali. G. 2005. Avian pathology. 34(4), 313-318.
- 41) Gordon r.f. 1977. Colibacillosis. Poultry dis., 26, 50-52.
- 42) Griffiths e. 1985. Candidate virulence markers. In sussmau m. Ed, the virulence of e. Coli, london: academic press, 193-226.
- 43) Gross w.b. 1956. *Escherichia coli* as a complicating factor in chronic respiratory disease in chickens and infectious sinusitis in turkeys. Poultry science, 35, 765-771.
- 44) Gross w.b. 1957. *Escherichia co* infection of the chickens eye. Avian dis.,1, 37-41.
- 45) Gross w.b. 1966. Electrocardiographic changes of e.coli infected bird. Am. J. Vet. Rec., 27, 1427-1436.
- 46) Gross w.b., and domermouth c.h. 1988. Factors influencing the severity of e.coli and avian adenovirus type 2 infections in chickens. Avian dis., 17, 767-774.
- 47) Gross w.b., and siegel p.b. 1959. Coliform peritonitis of chickens. Avian dis., 3, 370-373.
- 48) Gross w.b., wray, 1994. *Escherichia coli* in domestic animals and man. Wallingford, u.k, pp. 237-259.
- 49) Gross, w.g. (1994). Diseases due to *escherichia coli* in poultry. In : in : c.l. gyles (ed.), *escherichia coli* in domestic animals and humans, (cab international, wallingford), 237-259.
- 50) Hacker j., blum-oehler g., muhldorfer i., tschàpeh. 1997. Mol. Microbiol., 23, 1089-1097.
- 51) Hammoudi, A, aggad, H. (2008). Antibioresistance of *escherichia coli* strains isolated from chicken colibacillosis in western algeria. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 32(2):123-126.
- 52) Harry eg., and hemsley l.a. 1965. The association between the presence of septicaemia strains of e.coli in the respiratory and intestinal tracts of chickens and the occurrence of coli septicaemia. Vet. Res. 77, 35-40.
- 53) Horrox n. 2000. Controlling yolk sac infection. International hatchery practice, 14, 27- 28.

- 54) Hurk j.v. and potter allan b.j., van den a.a. 1993. Characterization of escherichia coli isolated from cases of avian colibacillosis. Can. J. Vet. Res., jul. 57, 146-151.
- 55) Jan. Vandenhurk., brenda j., allan. Riddell c., trent watts., and potter aa. 1994. Effect of infection with hemorrhagic enteritis virus on susceptibility of turkeys of escherichia coli. Avian dis., 38, 708-716.
- 56) Jann k. 1985. Isolation and characterization of fimbrioe from e.coli. In, sussmou med. The virulence of *e.coli*, london academic press; 381-388.
- 57) John d.c., karin l.l. and sawsan e.m. 2007. Intracellular distribution of heat labile enterotoxine in clinical isolates of *e.coli* infect and immu. Avian dis. 68, 135-139
- 58) Joya j.e., tsuji t., jacaline a.v., arita m., tsucamoto t.t., honda. And miwatani. T. 1990. Demonstration of enterotoxigenic escherichia coli in diarrheic broiler chicks. European journal of epidemiology, 6, 88-90
- 59) Krogfelt k.a. 1991. Bacterial adhésion: genetics, biogenesis, and rôle in pathogenesis of fimbrial adhesins of escherichia coli. Rev. Infect. Dis., 13, 721-735
- 60) Labarthe j.c., guillot j.f, bree a, et moulinec. 1986. Etude quantitative de la diffusion bactérienne capillaire et veineuse, lors de bactériémie expérimentale chez le poulet. Ann. Inst. Pasteur (microbiologie), 137, 317-324.
- 61) Lafont j.p., dho m, d'hauteville h.m, bree a, sansonetti p.j. 2001. Presence and expression of aerobactin genes in virulent strains of escherichia coli. Infect. Immun., 55, 193-197.
- 62) Lignieres m.j. 1894. Septicémie a colibacille chez la poule. Comp. Rend. Soc, de biol., 46, 135.
- 63) Malaviya r., ross e., jakschik b.a., abraham s.n. 1994. A. J. Clin. Invest., 93, 1645-1653.
- 64) Marc d., arne p, bree a, dho-moulin m, 1998. Res. Microbiol., 149, 473-485.
- 65) Martel m. 1897. Maladie a colibacille de la poule et la dinde. Comp. Rend. Soc. De biol, 49, 500.
- 66) Messaï, c.r., aït-oudhia,k., Khelef, d., hamdi, t.m., chenouf, n.s., messaï, m.r. (2015) serogroups and antibiotics susceptibility pattern of avian pathogenic escherichia coli strains responsible for colibacillosis in broiler breeding farms in the east of algeria, african journal of microbiology research vol. 9(49), pp. 2358-2363.
- 67) Messier s., quessy s, robinson y, devriese l.a., hommez j. And fairbrother j.m. 1993. Focal dermatitis and cellulitis in broiler chickens, bacteriological and pathological findings. Avian dis., 37, 839-844.
- 68) Morris m.p et fletcher s, gross. 1994. Diagnostic sumary; broilerbreederandleyer necropsycasesat universityoforgia avian disease. 32, 391-403.
- 69) Morris m.p. 1991. Cellulitis in broilers. Broilers industry. 332-400.
- 70) Nadeau. M., bergeron h, cote g, arseneault g, higgins r. 1999. Programme québécois de surveillance de la résistance aux agents antimicrobiens des bactéries d'origine animale et alimentaire. Proceedings agriculturer's role in managing antimicrobial resistance, "conférence", toronto.

- 71) Nakamura k. J., cook k. A., frazier j. A. And narita m.1992. *E. Coli* multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infections bronchitis virus and e.coli. Avian.dis, 36, 881-890.
- 72) Nakamura k., osobe t., and narita m.1990. Dual infection of eimeria tenella and escherichia coli in chickens. Research in veterinary science, 49, 125-126
- 73) Nakamura k., veda h., tanimura t., and noguchi k.1994. Effect of mixed live vaccine (newcastle disease and infectious bronchitis) and mycoplasma gallisepticum on the chicken respiratory tract and on e.coli infection. J. Comp. Patho, vol: 111, 33-42.
- 74) Naveh m.w.t., zuzman e., skutelsky. And ron e.z. 1984. Adherence pili in avian strains of e.coli. Effect on pathogenicity. Avian dis. 28: 651-661.
- 75) Ngeleka m., brereton, l., brown, g., fairbrother, j. M. 2002. Pathotypes *d'escherichia coli* de la grippe aviaire liés au vide, bouillie, pil, et iuc séquences d'adn, et la sensibilité aux antibiotiques des isolats provenant des tissus et le cloacae des poulets de chair. Avian distribution. 46, 143-152.
- 76) Norris. S, 1999. La résistance aux antibiotiques. Division de la science et de la technologie. Gouvernement de canada.
- 77) Parreira v.r., yano t., 1998. Vet. Microbiol., 62,111-119.
- 78) Pattison p. 1997. Avian dis., 41, 221-233.
- 79) Payne s.m. 1988. Iron and virulence in the family enterobacteriaceae. Critical revue in microbiology, 16, 81-111.
- 80) Peighambari s.m., vallancourt j.p., wimson r.a., and gyles c.l. 1995. Characteristics of e.coli isolated from avian cellulitis. Avian dis. 39: 116-124.
- 81) Pourbakhsh s.a., boulianne m., martineau-doizeb., dozois cm., desautels c, fairbrother j.m., 1997. Avian dis., 41, 221-233.
- 82) Pourbakhsh s.a., dho-moulin m., bree adesautels c, martineau-doize b., fairbrother j.m., 1997c. Microb. Pathogen., 22, 331.
- 83) Poyart. C. 2002. Résistance des bactéries aux antibiotiques. Bactériologie générale pcem2. Faculté de médecine necker enfants malades, page 56.
- 84) Prescott lansing. M. 2007. Ouvrage microbiologie. Page 28.
- 85) Provence d.l., curtiss iii r. 1994. Isolation and characterization of a gene involved in hemagglutination by an avian pathogenic escherichia coli strain. Infect. Immun. 62, 1369-1380.
- 86) Rahimi,. M. (2013). Antibioresistance profile of avian pathogenic escherichia coli isolates recovered from broiler chicken farms with colibacillosis in kermanshah province, iran. Glob. Vet. 10(4) :447-452.
- 87) Rosenberger j.k., fries p.a., cloud s.s.and wilson r.a.1985. In vitro and in vivo characterization of avian e. Coli: factors associated with pathogenicity. Avian dis., 29, 1094-1107.

- 88) Sakumi a.r., yamaguchi j., tottori k., chida v. and tatey ama s. 1996. Liver capsule thickening characterized by mesothelial cell proliferation with vascularisation in broilers ascites syndrome. *Avian dis.*, 25, 147-153.
- 89) Salehi. Z.h., and farashi bonab. S. 2006. Antibiotic susceptibility pattern of *escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticemia in tabriz province, iran. *International journal of poultry science.* 5, 677-684.
- 90) Scherman p.m., houston w.l, and boedeker e.c. 1985. Function heterogeneity of intestinal e.coli strains expressing type 1 somatic pili (fimbriae). assessment of bacterial adherence to intestinal membrane and surface hydrophobicity. *Infect. And immu.* 797-804.
- 91) Siccardi f.j. 1996. Identification and disease producing ability of *escherichia coli* association with e.coli infection of chickens and turkeys. M.s thesis, univ, minnesota. 17-220.
- 92) Skutelsky e., ron e.z. 1984. *Avian dis.*, 28, 651-661.
- 93) Stathopoulos c, provence d.l., curtiss iii r., 1999. *Infect. Immun.*, 67, 772-78
- 94) Stordeur p., mainil, j. 2002. La colibacillose aviaire. *Annales de médecine vétérinaire.* 146, 11-18.
- 95) Taylor p.w. 1983. Bacteriocidal and bacteriolytic activity of serum against gram negative bacteria. *Microbiol. Rev.*, 47, 46-83.
- 96) Van den bosch j.f., hendriks j.h.i.m., gladigau i., willems h.m.c., storm p.k. and de graff f.k. 1993. Identification of f, fimbriae on chicken *escherichia coli* strains. *Infect. Immun.* 61, 800-806.
- 97) Weinak o.m., snoeyenbos g.h., sinyser c.f. and soerjadi a.s. 2006. Comparative exclusion of intestinal colonization of *escherichia coli* in chicks. *Avian dis.* 49, 56.
- 98) White d.g., dho-moulin m., wilson r.a., whittam.s. 1993. *Microb. Pathogen.* 14, 399-409.
- 99) Whiteman c.e., bickford a.a. 1989. Eds. *Avian disease manuel 3rd ed*, iowa: kandal, hunt publishing, co. 21, 144-148
- 100) Zhao shaahua., john. J. Maurer., susannah hubbert., juan. F. De vllena, patrick. F. Mc dermott., jianghon meng., sherry ayers linda english., david. G. White. 2005. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *escherichia coli* isolates. *J. Of sci. Vet.*, 107, 215-224.