

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Aboubakr Belkaid Tlemcen

FACULTE DES SCIENCES / DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU MAGISTER

Option : **BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

Présenté par Mr **BARKA MOHAMMED SALIH**



Thème :

460/02

## **Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées de la volaille dans l'Ouest Algérien**

Soutenu le 28 septembre 2002

Devant le jury :

Président : Pr Benyoucef                      Université Aboubakr Belkaid Tlemcen

Directrice de thèse : Pr K.Rahal            Institut Pasteur d'Algérie

Examineurs : ♦ D.Abdelouahed            Université Aboubakr Belkaid Tlemcen

♦ Pr N.Karam            Université ESSENIA Oran

♦ A.Boudilmi            Laboratoire Vétérinaire Régional Tlemcen

Promotion : 2000/2001

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Aboubakr Belkaid Tlemcen

FACULTE DES SCIENCES / DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU MAGISTER

Option : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Présenté par Mr BARKA MOHAMMED SALIH

Thème :

مكتبة كلية العلوم  
ملحقه البيولوجيا

## Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées de la volaille dans l'Ouest Algérien

Soutenu le 28 septembre 2002



Devant le jury :

Président : Pr Benyoucef Université Aboubakr Belkaid Tlemcen

Directrice de thèse : Pr K.Rahal Institut Pasteur d'Algérie

Examineurs : ♦ D.Abdelouahed Université Aboubakr Belkaid Tlemcen

♦ Pr N.Karam Université ESSENIA Oran

♦ A.Boudilmi Laboratoire Vétérinaire Régional Tlemcen

Promotion : 2000/2001

## DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mes grands-parents.

A mon oncle Bouricha Mohammed qui constitue pour moi un modèle de réussite, et qui a toujours été là pour m'aider.

A mes parents, pour leur compréhension et leur soutien sans lesquels mes études puis ma formation à la recherche n'auraient pas été possibles ; je leur exprime toute la reconnaissance qui leur revient.

A mon frère Nouredine, en lui souhaitant de mener ses études jusqu'au bout .

A mes sœurs Zahira et Wafaa a qui je souhaite, bonheur et réussite.

A tous mes amis (es).

A tous mes proches.

—  
— tout en respectant les normes NCCLS, afin d'avoir une idée de l'antibiorésistance dans cette région.  
—

— L'étude du support de cette résistance, par transfert et caractérisation des plasmides, ainsi que l'électrophorèse sur gel d'agarose nous a aidé à connaître la nature et les différents groupes de ces plasmides de résistance.  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—  
—

# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Les principaux problèmes sanitaires rencontrés en élevage sont de type infectieux. Les flores microbiennes des sphères respiratoire et digestive jouent un rôle majeur sur l'état sanitaire des animaux et leurs performances zootechniques. Un rapport étroit existe entre ce qu'il est convenu d'appeler le microbisme ambiant de l'élevage, ces microflore, et la santé des animaux. L'introduction d'animaux d'origine 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.

#### I/ Les maladies infectieuses aviaires et les germes responsables :

- Les salmonelloses : de nombreux sérotypes différents sont responsables parmi lesquels (Who, rapport de l'OMS) :

- *S enteritidis*
- *S typhimurium*
- *S arizonae*
- *S dublin*

- Les pasteurelloses dues à

- *P multocida* (choléra aviaire)
- *P haemolytica*
- *P gallinarum*

- Les staphylococcies

- *S aureus*
- *S gallinarum*
- *S pullorum*
- *S typhimurium*
- *S albus*

- Les streptococcies

- *S pyogenes*
- *S pneumoniae*
- *S faecalis*

- Coryza infectieuse causée par *Haemophilus influenzae*

- Infections vitellines causées par *Pseudomonas aeruginosa*

-**Typhose et pullorose** (ou diarrhée blanche) qui sont causées respectivement par *Salmonella gallinarum* et *Salmonella pullorum*.

-Entérite ulcéralive causée par *Clostridium* sp.

-Tuberculose aviaire causée par *Mycobacterium avium*

- **Mycoplasmoses** dues a,

- *M gallisepticum*
- *M hyopneumoniae*
- *M synoviae*

## 2/ Les infections aviaires à E.coli :

Les infections à E.coli chez la volaille de distribution mondiale sont devenues plus fréquentes et 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. Ces infections à E.coli se placent actuellement au premier rang des pathologies aviaires fréquentes (Amara et all).

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 (Amara et all -Blanco et all- Emery et all).

L'incidence a augmenté avec l'introduction et le développement des méthodes d'élevage intensif, qui constituent certes, les conditions importantes de prédisposition.

En effet, les méthodes modernes d'élevages de poulet de chair, particulièrement en relation avec une ventilation inadéquate et un surpeuplement sont convenables pour le développement d'une infection à *Escherichia coli* et le transfert rapide de ce germe d'un oiseau à un autre.

a/ Colibacillose respiratoire : cette maladie s'observe à tout âge, les sujets sont indolents et anorexiques présentant des symptômes respiratoires non spécifiques : toux, râle, jetage, sinusite.

b/ Septicémies à E.coli : elles entraînent des lésions aiguës touchant, le foie, la rate, le rein et l'intestin, dues aux sérogroupes O1, O2, O8, O35, O78, très fréquentes chez les poulets de chair élevés industriellement.

c/ Les formes génitales (la salpingite) : la salpingite peut résulter de l'infection de l'oviducte par l'un des sérotypes d'E.coli. On l'observe dès l'entrée en ponte. Chez les

poulettes, elle peut gêner le fonctionnement de l'oviducte et provoquer un passage de l'œuf dans la cavité abdominale.

d/ Les omphalites : Les bactéries envahissent les tissus par suite de mauvaises conditions de température et d'hygrométrie dans l'éclosoir ; la contamination des tiroirs de l'éclosoir contribue à la diffusion de la maladie.

e/ Arthrites et synovites : les colibacilles peuvent surinfecter des maladies primitives :

- Arthrites à réovirus
- Synovite à *Mycoplasma synoviae*

f/ Granulomatose à E.coli : affection du tube digestif se traduisant par la formation de lésions granulomateuses des cæcums, du duodénum, du mésentère et du foie de la poule.

### 3/ Les antibiotiques utilisés dans le monde :

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.

À côté de cette utilisation thérapeutique, on trouve une utilisation propre à l'élevage de rente : l'usage zootechnique (non thérapeutique).

L'usage zootechnique d'antibiotiques apparentés à ceux employés en médecine humaine représente un risque considérable pour la santé humaine. Les animaux reçoivent de manière régulière et prolongée des doses non thérapeutiques d'antibiotiques pour favoriser leur croissance et améliorer la conversion alimentaire. L'utilisation d'antibiotiques, et notamment de pénicilline et de tétracyclines, représente jusqu'à 80% des antibiotiques employés dans l'agriculture (M.Bories)

Dans de nombreux pays, la volaille, le bétail et les porcs reçoivent régulièrement de faibles doses de ces antibiotiques pour améliorer leur taux de croissance et diminuer les quantités de nourriture nécessaires avant l'abattage.

Au niveau mondial, les familles d'antibiotiques utilisées en élevage sont souvent les plus anciennes, ce sont principalement les macrolides, pénicillines, fluoroquinolones et céphalosporines (voir tableau N°: 1) (Nadeau et al)

Dans le monde 90 % des antibiotiques produits et destinés aux animaux (27.000.t/an) seraient distribués par l'aliment, tous usages confondus (facteurs de croissance, préventif, curatif).



Ils sont utilisés à 20% chez les volailles. On estime que la supplémentation des aliments avec un additif de croissance (antibiotique ou chimique) concerne :

- de façon quasiment systématique : dindons (96 %),
- de façon largement majoritaire : poulets de chair (68 %) (Roch),
- de façon significative mais minoritaire : poules pondeuses (20 %).

**Tableau N°1 : Antibiotiques utilisés chez la volaille dans le monde**

Famille	Antibiotique	Utilisation
Aminoglycosides	gentamicine	Préventive
	neomycine	Curative
	streptomycine	Curative
	spectinomycine	Curative
Bacitracine	Bacitracine zinc*	Préventive
Betalactamines	amoxicilline	Curative
	penicilline	Curative
Cephalosporines	ceftiofur	Préventive
Macrolides	erythromycine	Curative
	lincomycine	Curative
	josamycine	Curative
	tylosine*	Curative
Quinolones	Enrofloxacin	Curative
	Acide oxolinique	Curative
	Fluméquine	Curative
	Sarafloxacin	Curative
Streptogramine	Virginiamycine*	Préventive
Sulfamides	triméthoprim-sulfaméthoxazole	Curative
	sulfaquinoxaline	Curative
	sulfadimidine	Curative
Tétracyclines	tétracycline	Curative
	chlortétracycline	Curative
	oxytétracycline	Curative
ATB combinés	Lincomycine/spectinomycine	Curative

\* Facteurs de croissance

ATB : Antibiotique

L'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire et dans la production animale suscite actuellement certaines craintes dans le grand public. Il est évident que toute utilisation d'antibiotiques (médicale, vétérinaire ou phytosanitaire) (**Bower**) exerce une pression de sélection sur les bactéries concernées et, de ce fait, conduit à une escalade du problème d'antibiorésistance et à une menace à long terme (**Gorse**).

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.

### I/ Etat de l'antibiorésistance dans le Maghreb :

Une enquête réalisée au Maroc par l'équipe de **Filali** et all en 1988 sur des E.coli aviaires provenant de différentes fermes, a montré la prédominance des sérotypes O78, O1, O2 . Tous les E.coli étaient sensibles à la fluméquine et la gentamicine, alors que la plupart étaient résistants à la tétracycline, par contre de faibles résistances au furanes, sulfamides, chloramphénicol, ampicilline et spectinomycine ont été observées .

Une autre enquête faite au Maroc par **Amara** en 1995 sur la résistance de souches d'E.coli isolées à partir de poulets autopsiés, a révélé un taux de résistance aux sulfamides, oxytétracycline, triméthoprime+sulphaméthoxazole et le chloramphénicol supérieur à 40%. Tandis que pour l'ampicilline, la gentamicine et les nitrofuranes la résistance était inférieure à 15% .

Une étude réalisée en Algérie par **Mouffi** et **Karaoui** en 2001 sur 54 souches d'E.coli isolées à partir de selles de poulets montre un taux de résistance de 66.66 % au sulfamides, 64.81 % pour le SXT, 57.40 % a l'acide nalidixique, 38.88 % pour la pipéracilline, 29.62 % pour l'ofloxacine et la ciprofloxacine et enfin 12.96 % pour le chloramphénicol.

### II/ Etat de l'antibiorésistance en Europe :

Dans une enquête réalisée en Bulgarie par **Giurov** en 1985 il a été mis en évidence que le nombre de souches de E.coli provenant de poulets et résistantes à la streptomycine était de 44.84 %, pour l'ampicilline 51.12 %, 66.17 % pour la tétracycline et 50.23 % pour le chloramphénicol. Alors que l'étude antigénique a montré que sur les 223 E.coli étudiées 181 étaient de sérotypes O1, O2 et O78 .

Une enquête épidémiologique réalisée en Angleterre entre 1986 et 1991 montra que sur les 402 souches d'E.coli isolées, les serotypes predominants étaient O78, O2 et beaucoup de

résistance ont été observés. Une autre enquête anglaise a montré qu'après la diminution de l'utilisation des antibiotiques chez le poulet, une diminution de la résistance a été observée pour la tétracycline, furazolidone et sulphonamides (**Wray**).

Une étude réalisée en Espagne par **Blanco** et al en 1997 sur 468 E.coli aviaire révéla un pourcentage très élevé pour la résistance au triméthoprime + sulphamethoxazole (67 %), ainsi que 13 à 24 % de résistance aux nouvelles classes de fluoroquinolones.

Une enquête réalisée en Finlande par le Ministère de l'agriculture et des forêts en 1999 a rapporté que 10 % des E.coli isolées étaient résistants à l'ampicilline, la streptomycine et le triméthoprime tandis que la résistance aux sulphonamides et la tétracycline était plus conséquente, et que 40 % des souches étaient multirésistantes (**Ministry of agriculture Finland**).

En 1999, une étude française sur des E.coli pathogènes aviaires (APEC : Avian Pathogenic Escherichia Coli), a confirmé que les sérotypes responsables étaient O1, O2 et O78 et qu'ils étaient résistants à un grand nombre d'antibiotiques de par leur utilisation abusive (**Dho-Moulin**).

L'Australie, la France et la Suisse sont parmi les pays qui ont interdit l'utilisation de n'importe quels antibiotiques dans l'alimentation (monensine sodium, salinomycine-sodium, avilamycine et flavophospholipol).

Les Etats-Unis ont interdit les nitrofuranes, le chloramphénicol et l'ampicilline dans l'alimentation, tandis que l'Allemagne interdit la pénicilline et la tétracycline et les Pays-Bas a interdit la pénicilline et la tétracycline.

En Suisse, l'interdiction de l'usage des antibiotiques dans l'alimentation animale (facteurs de croissance) est entrée en vigueur le 1<sup>er</sup> janvier 1999. Elle a pour but une diminution de l'usage des antibiotiques dans l'élevage des animaux. Actuellement, les antibiotiques ne peuvent être utilisés que sous contrôle vétérinaire (**Communiqué de presse-Berne**).

Depuis le 1<sup>er</sup> avril 2002 une nouvelle loi sur l'utilisation des médicaments à usage vétérinaire est entrée en vigueur en Autriche sous l'appellation (TAKG). Cette loi instaure, outre un contrôle plus sévère, des peines plus lourdes pour les infractions éventuelles. Cette nouvelle loi permet de prononcer des peines d'emprisonnement contre les personnes qui utilisent illégalement les médicaments dans le secteur animal.

A partir de janvier 2006, un nouveau règlement présenté par l'UE à Bruxelles prévoit l'élimination progressive des quatre additifs antibiotiques encore présents sur le marché de l'UE. Pour l'heure, ces substances (monensine sodium, salinomycine-sodium, avilamycine et

flavophospholipol) ne sont pas utilisées en médecine humaine. Les additifs antibiotiques destinés à l'alimentation animale utilisés en médecine humaine et vétérinaire ont déjà été éliminés progressivement en application de décisions antérieures de la Commission européenne (Le comité scientifique directeur de l'UE). **(Comité scientifique de l'Union Européenne)**

La réduction de l'utilisation des antibiotiques comme stimulateurs de croissance ne provoque pas nécessairement une perte de productivité au niveau des animaux et donc pas de pertes économiques pour les producteurs ni une augmentation des prix à la consommation. Cela n'entraîne pas non plus l'emploi accru d'autres médicaments à la place des antibiotiques.

### 1/ L'expérience Suédoise :

Dès 1986 (**Wierup**), la Suède a interdit l'utilisation d'antibiotiques comme promoteurs de croissance, essentiellement pour des raisons éthiques, estimant qu'il fallait assurer la santé des animaux. La vente des antibiotiques a chuté brusquement et correspond actuellement à 30% des quantités vendues avant 1986. Aujourd'hui, il est interdit d'ajouter systématiquement des antibiotiques dans l'alimentation des animaux. Ils ne peuvent être utilisés qu'à des fins médicales et doivent être prescrits par un vétérinaire après un diagnostic. En outre, le vétérinaire doit choisir un antibiotique présentant un faible risque en matière d'accroissement de la résistance des bactéries (**Mouli-Sou-Who**).

- la Suède produit des volailles à des prix compétitifs,
- les salmonelles sont très rares,
- les taux de croissance sont tout à fait compétitifs,
- l'usage des antibiotiques a diminué de 50% depuis 1984,
- les phénomènes de résistance aux antibiotiques sont plus faibles en Suède que dans de nombreuses parties de l'Europe (**M Mikaelsson**).

### 2/ L'expérience Danoise :

L'utilisation régulière d'antibiotiques comme la pénicilline et les tétracyclines pour favoriser la croissance a eu pour effet que ces antibiotiques sont moins efficaces pour le traitement des maladies des animaux. C'est ainsi qu'au Danemark, où l'utilisation non thérapeutique des tétracyclines et de la pénicilline est interdite, les tétracyclines sont efficaces pour le traitement de la diarrhée des veaux alors qu'aux USA, elles ne sont pas efficaces.

Le Danemark comme la Finlande ont décidé de suivre la Suède, ils ont banni l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance chez les animaux ; dorénavant la prescription

d'antibiotiques ne se fera que sur avis du vétérinaire après détermination de l'espèce bactérienne et de son phénotype.

L'évolution de la résistance sera suivi au Danemark par le DANMAP (Programme intégré danois de surveillance et de recherche sur la résistance aux agents antimicrobiens), qui pourra informer les scientifiques sur l'efficacité de bannir les antibiotiques chez l'animal et de ce fait produire des animaux sans utiliser des additifs antibiotiques (agriculture dite "biologique", production sous label) moyennant des coûts de production plus élevés mais avec une résistance bactérienne aux antibiotiques des moins élevée avec celle de la Suède.

### III/ Etat de l'antibiorésistance dans le monde :

Une étude sur des E.coli isolées de selles et de carcasses de poulets en Iran en 1980, a montré que 15.43 % des 648 souches étudiées pouvaient transférer la résistance aux tétracyclines, streptomycine, ampicilline et sulfonamide à d'autres souches par conjugaison (**Nazer**).

Une enquête épidémiologique réalisée en Arabie Saoudite en 1985, a mis en évidence que les E.coli présentant le sérotype O 78 (le plus dominant) étaient résistants a 6 antibiotiques testés.

Une autre enquête Saoudienne réalisée en 1999 par **Al-Ghamdi et Barbour** sur des E.coli isolés à partir de selles révèle une grande résistance à l'ampicilline, chloramphénicol, gentamicine, spectinomycine, tétracycline et triméthopime + sulphamethoxazole avec des pourcentages qui varient de 57 -99.1 % .

Au Nigeria en 1989, toutes les souches d'E.coli isolées à partir de poulets de batterie étaient résistantes a la tétracycline, streptomycine et sulphonamide alors que 99 % étaient sensibles a colistine, chloramphénicol, nitrofurantoine et l'acide nalidixique.

En Grèce en 1992, une étude sur le transfert de résistance des phénotypes streptomycine et streptomycine-tétracycline-sulfamides a montré, qu'il était dû a des plasmides R de faible poids moléculaire (**Wooley et all**).

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

Au Kenya en 1994 une étude faite sur 37 souches d'E.coli aviaire montra 100 % de résistance au sulfaméthoxazole, 62.2 % à l'ampicilline, 51.4 % à la tétracycline et 13.5 % à la kanamycine.

En 1998 en Afrique du sud Manie et all ont mis en évidence que l'addition de facteurs de croissance dans le but d'avoir des poulets avec des poids uniformes, entraînent des résistances a divers antibiotiques et les infections aviaires sont de plus en plus difficiles a traiter .

Dans une étude réalisée aux Etats-Unis en 1999 par Lydia Bass et all, il a été prouvé que plus de 36 % des E.coli isolés étaient résistants a la tétracycline, oxytétracycline, streptomycine, sulfonamides et la gentamicine .

Dans une autre enquête réalisée aux Etats-Unis en 2000 par David G. White et all, il est écrit que la majorité des E.coli isolés étaient résistants au sulfaméthoxazole, tétracycline , streptomycine , gentamicine , et l'ampicilline et 66 % des souches présentaient une résistance a plus de 5 antibiotiques .

Dans une étude réalisée en 2000 au Trinidad et Tobago, 50 % des 603 E.coli provoquant des colibacilloses étaient résistants a 9 des 11 antibiotiques testés, avec une augmentation de la résistance a l'amoxicilline, l'apramycine, la gentamicine, le nitrofurantoine, norfloxacine, et trimethoprime+sulfaméthoxazole par rapport aux années précédentes (Lambie et all).

Au Ghana en 2001 Sackey BA et all a noté que les E.coli isolés étaient résistantes à l'ampicilline, pénicilline, tétracycline et l'érythromycine, par contre ils étaient sensibles a la fosfomycine .

#### IV/ Les maladies les plus fréquentes dans l'Ouest Algérien :

- Salmonelloses : dues surtout a *S gallinarum pullorum* qui sont des maladies à déclarations obligatoires comme le stipule la loi.
- Colibacilloses
  - \*Respiratoires
  - \*Septicémies
  - \*Diarrhées
- Pasteurelloses provoquées par *P gallinarum*
- Streptococcies
- Staphylococcies
- Coryza due a *Haemophilus influenzae*

- Infections vitellines provoquées par *Pseudomonas*
- Mycoplasmes qui sont responsables de M.R.C (maladies respiratoires chroniques) dues à *M. gallisepticum*.

#### **VI/ Antibiotiques utilisés dans l'ouest Algérien :**

Ils peuvent être administrés à titre :

1/ Curatif : pour traiter une maladie qui se manifeste par divers symptômes.

2/ Préventif : permettent d'éviter une infection possible, à l'occasion d'un transport, d'une vaccination ou d'un stress.

3/ Facteur de croissance : c'est une utilisation qui est propre à l'élevage de rente. Si de faibles quantités d'antibiotiques étaient incorporés dans l'alimentation pendant la période de croissance des animaux, on obtient un gain de poids que l'on peut estimer entre 2 à 5 %.

Les différents antibiotiques utilisés dans l'ouest Algérien sont reportés dans le tableau ci-dessous ( d'après une enquête faite au niveau de différents vétérinaires) après enquête faite chez différents vétérinaires dans les wilayas de Tlemcen, Saida, Oran, Sidi Bel Abbés et Mostaganem .

**Tableau N°2 : Antibiotiques utilisés dans l'ouest Algérien**

<b>Nom commercial</b>	<b>DCI de l'antibiotique</b>	<b>Indications</b>	<b>Utilisation</b>
AMPI 20 %	Ampicilline Trihydrate	Salmonelloses Colibacilloses Infections à Proteus	Curative Préventive
Flumisol	Fluméquine	Salmonelloses Colibacilloses Pasteurelloses	Curative
Terramycine Antistress	Oxytétracycline	Agressions microbiennes liées au stress Gram – et Gram +	Curative Préventive Facteur de croissance
Hipralona-EnroS	Enrofloxacin	Salmonelloses Colibacilloses Pasteurelloses Mycoplasmoses	Curative
Erythro-Vita-Stress	Erythromycine	M.R.C	Curative

		Synovites	Préventive Facteur de croissance Anti-Stress
Imequyl 20 %	Fluméquine	Salmonelloses Colibacilloses	Curative
Trialpucine	Josamycine Triméthoprime	M.R.C Mycoplasmoses	Curative Préventive
Suramox P.O.S	Amoxicilline	M.R.C Staphylococcies	Curative
Clamoxyl	Amoxicilline	Salmonelloses Colibacilloses Staphylococcies	Curative
Trisulmix	Triméthoprime Sulfadiméthoxine	M.R.C	Curative
Biaprim	Triméthoprime Sulfadiméthoxine	Salmonelloses Colibacilloses Staphylococcies	Curative Préventive
Oxytetracycline 50 %	Oxytetracycline	M.R.C	Curative
Vigal 2X	Erythromycine	M.R.C Synovites	Curative Préventive
Gallimycin WS 20 %	Erythromycine	M.R.C	Curative
Colistine WS 20 %	Colistine	Salmonelloses Colibacilloses	Curative Préventive Facteur de croissance
Neoterramycine	Oxytétracycline Néomycine	Entérites infectieuses	Curative Facteur de croissance
Bioxol	Acide oxolinique		Curative

DCI : Dénomination commune internationale

MRC : Maladies Respiratoires chroniques



# **MATERIEL ET METHODES**

## I/ Matériel :

### 1/ Souches étudiées :

Notre travail a porté sur l'étude de 138 souches (dont la répartition est reportée dans le tableau N° 3) d'entérobactéries isolées entre le 15/01/2000 et le 29/04/2001 qui ont été prélevées sur des organes de volailles fraîchement autopsiées reçus au laboratoire de bactériologie médicale au centre vétérinaire de Tlemcen.

Ces volailles proviennent de différents sites d'élevages de différentes Wilayas de l'ouest Algérien, pour être analysées dans le cas de suspicion de salmonelloses.

Tableau N°3 : Différents sites étudiés

Wilaya	Site
Oran	AVIBED Bir El Jir
	ESSENIA
	Boutlelis
	Messerghine
	Hassi-Bounif
	Tenira
Sidi Bel Abbes	EURL Habara
	UPD S/Brahim
	Unité Bouchentouf
	EURL Belarbi
	EURL S/Lahcene
	Benbadis
	Sarl NAIR
	Amarnas
	Sidi Khaled
	SOPAC
	Remchi
S/Abdelli	

Tlemcen	A/Tellout
	Zenata
	A/Youcef
	O/Mimoun
	A/Defla
Saida	Youb
	n.c*
	n.c
Mostaganem	n.c
	n.c
Ain-Temouchent	n.c
Naama	n.c
Total	30



\* n.c: pas d'information sur le site

## 2/ Souches de référence:

Elles ont été utilisées dans le but de valider toutes techniques utilisées dans ce travail.

- *Escherichia coli* ATCC 25922 : utilisé pour lors de la réalisation de l'antibiogramme et les concentrations minimales inhibitrices
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 : utilisé pour lors de la réalisation de l'antibiogramme

## 3/ Autres souches :

- *Escherichia coli* C 600 Rif : souche ayant une résistance chromosomique a la rifampicine, utilisée lors des transferts par conjugaison.
- *Escherichia coli* K 12 Nal : souche ayant une résistance chromosomique a l'acide nalidixique, utilisée lors des transferts par conjugaison.
- *Escherichia coli* J5 Azide : souche sensible a la colicine, utilisée pour rechercher les colicines.
- *Escherichia coli* F3 : souche produisant des colicines, utilisée comme témoin lors de la recherche des colicines.

4/ Plasmides de référence : ont été utilisés lors du test de compatibilité ;

- Com 1 Ifi il 14 R 525 résistant a la Kanamycine
- Com 1 PPED 1 résistant a A C Tp
- Com 1 PPED 2 résistant a K Ge Tob Net
- FI Fi' R 386 résistant a Te

5/ Antibiotiques testés :

- Antibiotiques en disques : tous les antibiotiques proviennent de Biorad, Marnes, La Coquette, France. La liste figure dans le tableau N° 4.

**Tableau N°4 : La liste des antibiotiques testés**

Antibiotiques	La charge (µg)
<b><u>β-lactamines</u></b>	
Ampicilline	10
Amoxicilline + Acide clavulanique	10
Ticarcilline	75
Pipéracilline	100
Cefazoline	30
Cefoxitine	30
Cefotaxime	30
Cefepime	30
Cefpirome	30
Moxalactam	30
Imipeneme	10
<b><u>Aminosides</u></b>	
Gentamicine	10
Amikacine	30
Netilmicine	30
Streptomycine	10
Kanamycine	10

<b><u>Furanes</u></b>	
Nitrofurantoïne	300
<b><u>Quinolones</u></b>	
Acide nalidixique	30
Ofloxacin	5
Ciprofloxacine	5
<b><u>Polypeptides</u></b>	
Colistine	10
<b><u>Cyclines</u></b>	
Tétracycline	30
<b><u>Phénicolés</u></b>	
Chloramphénicol	30
<b><u>Sulfamides</u></b>	
Sulfamides	300
Triméthoprime	5
cotrimoxazole	1.25/23.75

- Antibiotiques en poudre : ont été utilisés lors de la détermination des concentrations minimales inhibitrices et la préparation des boîtes de sélections pour le transfert de plasmides.

- ▶ Tétracycline : SIGMA.
- ▶ Chloramphénicol : ROUSSEL UCLAF.
- ▶ Ciprofloxacine : BAYER.
- ▶ Acide nalidixique : SERVA.
- ▶ Ofloxacin : ROUSSEL UCLAF.
- ▶ Gentamicine : SHERING-PLOUGH.
- ▶ Tobramycine : ALCON
- ▶ Rifampicine : MERCK
- ▶ Streptomycine : MEHECO Pharm & Chem.
- ▶ Kanamycine : BRISTOL-MEYERS SQUIBB.
- ▶ Triméthoprime : ROCHE.
- ▶ Ampicilline : SAIDAL.
- ▶ Amikacine : BRISTOL-MEYERS SQUIBB.

6/ **Milieux de culture** : le BCP et la gélose Hektoen (pour les salmonelles) sont les milieux utilisés pour l'isolement des entérobactéries, tandis que le milieu Mueller-Hinton est conseillé pour la réalisation de l'antibiogramme, la détermination des concentrations minimales inhibitrices, le transfert des plasmides et le test de compatibilité.

7/ **Appareillage** :

- Centrifugeuse à 12000 tr/min (SIGMA)
- Ensemencement de Steers pour la réalisation des CMI
- Densitomètre (DENSIMAT Biomérieux)
- Bain-Marie avec agitateur (FIRLABO)
- Transilluminateur à UV (VILBER Lourmat)
- Appareil photo (POLAROID gel cam)

8/ **Autres produits** : tous ces produits sont importants en biologie moléculaire pour la technique de l'électrophorèse sur gel d'agarose.

- TEG+Lysozyme
- Tampon de lyse
- Acétate de potassium
- Phénol-chloroforme
- Ethanol à 100 %
- Ethanol à 70 %
- TE
- TBE
- Bromure d'éthidium
- Bleu de bromophénol
- Agarose: pour la réalisation du gel de migration

La composition des produits sus cités figure en annexe.

## **II/ Méthodes :**

### **II-1/ Prélèvements :**

Tous les prélèvements ont été effectués au niveau du Laboratoire Vétérinaire Régional de Tlemcen entre le 15/01/2000 et le 29/04/2001. Il s'agissait dans un premier temps de prélever un organe interne (foie, rate, intestin ou os) sur des poulets fraîchement autopsiés, ensuite l'organe est déposé dans une boîte de Pétri stérile, le temps qu'il soit amené au service de bactériologie médicale. La surface de l'organe est flambée puis on introduit une pipette Pasteur à l'intérieur de l'organe et on aspire à l'aide d'une poire jusqu'à 1 ml de sang qu'on ensemence dans un milieu d'enrichissement (Rapaport) et on incube 18 heures à 35°C.

### **II-2/ Identification :**

L'identification ainsi que toutes les étapes qui vont suivre ont été effectuées à l'IPA.

#### **1/ Test des 3 sucres :**

Un tube de milieu TSI est ensemencé avec la souche à étudier et incubé 18 heures à 35°. Ce test permet la mise en évidence de la fermentation du glucose, du lactose et du saccharose (avec ou sans dégagement de gaz), et la production d'H<sub>2</sub>S qui colore le milieu en noir due à la formation du sulfure de fer.

#### **2/ Recherche de la production d'indole :**

La souche à tester est incubée 18 heures à 35° dans de l'eau peptonnée exempte d'indole ce qui permet de mettre en évidence la production d'indole, résultant de la dégradation du tryptophane qui est recherché après addition de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs, qui se traduit par la formation d'un anneau rouge à la surface.

#### **3/ Recherche du type de fermentation :**

Consiste à mettre en évidence l'une des 2 voies fermentatives, par l'ensemencement d'un tube de Clark et Lubs.

- S'il y a une fermentation acide mixte avec production d'acide formique, acétique et lactique le PH diminue et la coloration rouge du rouge de méthyl est maintenue .
- S'il y a une fermentation butylène glycol, avec formation d'acétoïne, cette dernière se colore en rose après addition du réactif de Voges Proskauer.

#### 4/ Recherche de la B-galactosidase :

La souche à identifier est ensemencée dans tube de 2ml d'eau physiologique auquel on ajoute un disque d'ONPG. Après incubation à 35° pendant 18 heures, la réaction positive se traduit par une coloration jaune citron due à la libération d'orthonitrophénol.

#### 5/ Test de Simmons :

Ce test permet la mise en évidence de la citrate perméase, permettant à la souche de se développer sur ce milieu contenant le citrate de sodium comme seule source de carbone.

Après incubation à 35°, l'utilisation du citrate se traduit par la libération des ions OH<sup>-</sup> qui alcalinisent le milieu, en le faisant virer la couleur verte de bromothymol au bleu.

#### 6/ Recherche de la lysine, ornithine décarboxylase et de l'arginine dihydrolase :

Le milieu de Moeller contenant les acides aminés est ensemencé avec la souche à étudier. Après addition de l'huile de vaseline et incubation 35° pendant 18 heures, les résultats suivants ont été obtenus : dans un premier temps l'acidification du milieu due à l'utilisation du glucose entraîne une coloration jaune, puis, si l'un des acides aminés est utilisés, l'ammoniac ainsi formé alcalinise le milieu d'où apparition d'une coloration violette.

#### 7/ Recherche de l'uréase et du tryptophane désaminase :

Le milieu d'urée indole est ensemencé avec la souche à tester.

Après 18 heures d'incubation à 35°, la souche produit la réaction suivante :



La combinaison des produits CO<sub>2</sub> + NH<sub>3</sub> entraîne la formation du carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu et entraîne un virage au rouge violacé.

La tryptophane désaminase est détectée par addition du perchlorure de fer qui entraîne une coloration brunâtre.

#### 8/ Test mannitol-mobilité :

Ce test permet à la fois de tester l'utilisation du mannitol qui se traduit par une acidification entraînant un jaunissement de l'indicateur et la mobilité qui se traduit par une diffusion à partir de la piqûre centrale.



### 9/ Test de l'utilisation des différents sucres

La recherche de l'utilisation des sucres a été faite grâce aux galeries Entero 2 au niveau de l'Institut Pasteur d'Algérie.

Après 18 heures d'incubation à 35° l'utilisation du sucre se traduit par une acidification faisant virer le rouge de phénol au jaune.

### 10/ Les galeries Entero 2 : *principe*

Le système Entero 2 est une méthode miniaturisée associant 20 tests biochimiques standardisés permettant l'identification des entérobactéries et autres bacilles Gram négatif, elle produite par le service de milieux de culture de l'Institut Pasteur d'Algérie.

-Principe : La galerie Entero 2 comporte 20 microtubes contenant les milieux sous forme déshydratée pour la mise en évidence d'enzymes ou l'assimilation de substrats. Les micro cupules sont inoculées à l'aide d'une suspension bactérienne qui réhydrate le milieu au moment de l'emploi. Les réactions produites pendant la période d'incubation 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 et l'identification est obtenue à l'aide d'un tableau d'identification identique à celui des API 20E.

[ Nous l'avons utilisée pour la recherche des sucres et pour la confirmation des résultats obtenus par la galerie classique. ]

### II-3/ Etude de l'antibiorésistance

[ Nous avons utilisé la méthode par diffusion de disques imprégnés, décrite pour la première fois par Kirby-Bauer en 1966, et utilisée actuellement par différents organismes de recherche avec des modifications mineures.

-A partir d'une culture pure de 18 heures, prélever à l'aide d'une pipette Pasteur 3 à 4 colonies ayant le même aspect.

-Décharger la pipette dans tube d'eau physiologique à 9 %.

-Homogénéiser la suspension bactérienne, la mettre dans le densitomètre pour avoir une opacité de 0,5 McFarland.

-Tremper un écouvillon stérile dans la suspension, et éliminer l'excédent en pressant l'écouvillon sur la paroi du tube

-Ensemencer en stries sur toute la surface gélosée à trois reprises en faisant tourner la boîte et l'écouvillon de 60° après chaque application.

-Appliquer les disques d'antibiotiques à l'aide d'un distributeur ou d'une pince stérile. IL ne faut pas mettre plus de 6 disques dans une boîte de 90 mm.

-La lecture se fait par la mesure du diamètre d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique.

-Comparer les diamètres obtenus aux valeurs critiques figurant dans la référence (NCCLS).

-Dans notre étude on a complété avec une lecture interprétative, c'est à dire en comparant les diamètres des souches étudiées avec celui de la souche de référence pour éviter les erreurs surtout quand il y a présence de résistances de type « Border Line ».

-Pour vérifier la validité du procédé, l'antibiogramme des souches de référence est réalisé le même jour dans les mêmes conditions (Denteil).

#### **II-4/ Détermination de la CMI en milieu solide :**

La CMI est la plus faible concentration d'une gamme de dilution d'antibiotique de demi en demi, qui entraîne une inhibition de toute croissance bactérienne visible. C'est la méthode de référence pour la mesure de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques(Rapport OMS 610).

Elle sert ainsi à la mise au point et au contrôle des autres méthodes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques.

##### **1/ Préparations des solutions d'antibiotiques :**

L'eau distillée est le solvant le plus largement utilisé pour préparer les solutions concentrées d'antibiotiques. Dans certain cas, la solubilisation s'effectue dans un solvant différent et la solution doit être diluée dans un diluant adapté.

Exemple : pour le chloramphénicol la solution mère à une concentration de 2000  $\gamma$  (mg/ml) on l'obtient avec : 20 mg d'antibiotique + 2 ml d'éthanol + 8 ml d'eau distillée.

##### **2/ Réalisation :**

Introduire 2 ml d'eau distillée stérile dans une boîte de Mueller-Hinton (boîte témoin) et 2 ml de chaque dilution d'antibiotique(voir tableau N° 5) dans une série de boîtes, en allant de la concentration la plus faible à la plus forte.

Ajouter 18 ml de Mueller-Hinton, laisser solidifier puis sécher les boîtes.

On prépare ensuite l'inoculum avec une densité optique de 0.5 mcfarland, pour toutes les souches à étudier y compris la souche de référence E. coli ATCC 25922, puis on ensemence à l'aide d'un ensemenceur de Steers sur toutes les boîtes.

Lire la CMI, concentration pour laquelle il n'y a pas de culture visible à l'œil nu. La présence de 1 à 3 colonies n'est pas prise en considération quelque soit leur aspect ou leur taille.

### 3/ Lecture :

Comparer la CMI de la souche a étudiée avec celle de la souche de référence.

Pour toutes les CMI effectuées, on a utilisé une lecture interprétative, c'est a dire un écart supérieur ou égal a deux dilutions entre les valeurs de CMI des souches testées et celle de la souche de référence ; ça nous permet de classer les souches dans la catégorie résistante.

**Tableau N°5 : Gamme de concentrations d'antibiotiques utilisés**

Solution mère	ATB	E.D	Concentration en tube	Concentration en boîte
2000 $\gamma$ *	6.4ml	3.6ml	1280 $\gamma$	128 $\gamma$
1280 $\gamma$ *	2ml	2ml	640 $\gamma$	64 $\gamma$
	1ml	3ml	320 $\gamma$	32 $\gamma$
	0.5ml	3.5ml	160 $\gamma$	16 $\gamma$
	0.5ml	7.5ml	80 $\gamma$	8 $\gamma$
80 $\gamma$ *	2ml	2ml	40 $\gamma$	4 $\gamma$
	1ml	3ml	20 $\gamma$	2 $\gamma$
	0.5ml	3.5ml	10 $\gamma$	1 $\gamma$
	0.5ml	7.5ml	5 $\gamma$	0.5 $\gamma$
5 $\gamma$ *	2ml	2ml	2.5 $\gamma$	0.25 $\gamma$
	1ml	3ml	1.25 $\gamma$	0.125 $\gamma$
	0.5ml	3.5ml	0.63 $\gamma$	0.063 $\gamma$
	0.5ml	7.5ml	0.32 $\gamma$	0.032 $\gamma$
0.32 $\gamma$ *	2ml	2ml	0.16 $\gamma$	0.016 $\gamma$

\* changer la pipette après chaque utilisation.

ATB : antibiotique ; ED : eau distillée.

## II-5/ Etude antigénique .

Il existe trois catégories d'antigènes, seulement le O1K1, O2K1 et le O78K80 ont été étudiés par réaction d'agglutination, ce sont les antigènes les plus fréquents chez la volaille et les seuls dont on dispose.

### 1/ Antigène de la paroi ou antigène O :

De nature lipopolysaccharidique, ils sont thermostables et alcool stable, Les antigènes O sont particulièrement importants, car ils conditionnent le pouvoir pathogène des souches. On a distingué jusqu'à présent, plus de 171 antigènes O différents chez *Escherichia coli* (**Le Minor**).

### 2/ Antigènes capsulaires ou antigène K :

De nature polysaccharidique, ils entourent les antigènes O et se présentent sous deux types de structure :

- La première, capsulaire lorsqu'ils constituent une capsule visible au microscope.
- La seconde, d'enveloppe quand ils ne sont pas visibles au microscope et masquent les antigènes somatiques, si bien qu'ils inhibent l'agglutinabilité O des bactéries par les sérums de diagnostic des *Escherichia coli* préparés sur lapin.

Environ 80 antigènes K ou antigènes d'enveloppe différents ont été reconnus.

### 3/ Antigènes flagellaires ou antigène H :

Ils sont thermolabiles, non alcoolrésistants, constitués de molécules de flagelline, comparables à la myosine du muscle. Les antigènes ne sont présents que chez les souches mobiles ; on en connaît 56 types.

Les antigènes O, K, H sont à la base d'un schéma de diagnostic antigénique, notamment pour le diagnostic différentiel, ils permettent d'établir le sérotype et de détecter les souches d'*Escherichia coli* responsables de pathologies (**Kauffman**).

### 4/ Technique :

Nous avons utilisés la méthode d'agglutination sur lame avec les sérums O1K1, O2K1 et O78K80. Des cultures jeunes de 18 heures sont mises en suspension dans une goutte de sérum. L'agglutination est positive s'il y a formation d'agglutinats dans les secondes qui suivent le contact de la suspension avec le sérum ; dans la cas contraire on dira que la souche est inagglutinable dans les trois sérums testés (**Ørskov**).

## II-6/ Transfert des plasmides :

### 1/ Mécanismes de résistance :

-Absence de pénétration de l'antibiotique dans la bactérie due à la présence d'une perméase spécifique.

-Modification de la cible.

-Résistance par changement de voie métabolique.

-Production d'enzyme, comme les  $\beta$ -lactamases contre les  $\beta$ -lactamines.

### 2/ Supports de l'antibiorésistance :

-Résistance chromosomique : se fait généralement par mutation.

-Résistance extra chromosomique : peut être codée par les transposons et les plasmides (**Richard**), ces derniers sont capables de répllication indépendante de l'ADN. La plupart des plasmides d'importance clinique sont conjugatifs, ils possèdent des gènes pour les pili et pour un mécanisme spécialisé de répllication de l'ADN. Une fois le gène de résistance présent sur le plasmide, il peut être transmis à toutes les espèces faisant partie de la gamme des cellules hôtes du plasmide (**Cambau -Chaslus Dancla**) .

### 3/ Technique de transfert de plasmides par conjugaison :

-Prendre une colonie de la souche à étudiée (donatrice) et une colonie de la souche de référence (réceptrice), mettre chacune dans un tube de BHIB.

-Laisser 4 heures en agitation à 35° C.

-Prendre 1 ml de chaque tube qu'on mélange avec un râteau dans une boîte de Mueller-Hinton.

-Incuber le couvercle vers le haut 18 heures à 35° C.

-Après incubation ajouter 1 ml de BHIB stérile, mélanger à l'aide d'un râteau et récupérer le surnageant (qui contient normalement les transconjugants) à l'aide d'une pipette Pasteur munie d'une poire.

### 4/ Préparation des boîtes de sélection :

Il s'agit de milieux gélosés coulés en boîtes de Pétri contenant 2 antibiotiques, l'un correspondant à caractère suspecté plasmidique de la souche donatrice et l'autre à un caractère chromosomique de la souche réceptrice.

<u>Exemple</u> :	Souche donatrice	Souche réceptrice
	E.coli A C Te K	E.coli C 600Rif

Boites de sélection :

1/ A + Rif

2/ C + Rif

3/ K + Rif

4/ Te + Rif

On mettra 1 ml de chaque antibiotique et 18 ml de Mueller-Hinton.

#### **5/ Ensemencement des boites de sélection :**

A l'aide d'une anse de platine, on ensemence la souche donatrice et la souche réceptrice en trait sur le quart de la boite, et le mélange en strie sur les trois quarts restant et ceci pour toutes les boites de sélections.

Incuber 18 heures a 35° C, puis effectuer un antibiogramme sur les transconjugants afin de déterminer les caractères transférés.

#### **6/ Lecture des boites de sélection :**

La présence de colonies sur la partie ou le mélange a été ensemencé signifie qu'il y a présence de transconjugants, tout en vérifiant les caractères biochimiques, dans notre cas le lactose doit être négatif et l'indole positif qui sont des caractères propres a la souche réceptrice.

En effectuant un antibiogramme sur un nombre maximum de colonies de transconjugants (ce nombre peut aller jusqu'à 80 colonies), avec les marqueurs de résistance de la souche donatrice et la souche réceptrice, on pourra déterminer les caractères transférables.

Les souches réceptrice et donatrice, ne doivent pas pousser, dans le cas contraire il faut refaire la manipulation.

### **II-7/ Test de compatibilité (ou groupage) :**

1/ **Définition** : Un plasmide A et un plasmide B sont dits incompatibles lorsqu'ils sont incapable de coexister de façon durable dans une bactérie, dans le cas contraire on parle de plasmides compatibles.

Les plasmides incompatibles entre eux sont apparentés, et il est logique de les réunir au sein d'une même famille, appelée groupe d'incompatibilité ou groupe Inc (Joly).

2/ **Technique** : c'est la même technique que le transfert génétique, sauf que dans ce cas on croise le transconjugant avec un E.coli qui porte un plasmide de référence, afin de déterminer le groupe auquel appartient le plasmide étudié (Delhalle).

**Remarque :** le plasmide de référence doit avoir une a deux résistances différentes que celle de la souche a étudier.

### **II-8/ Recherche de la colicine :**

Les colicines sont des bactériocines de nature protéique à action antibiotique rencontrées chez de nombreuses espèces bactériennes Gram + ou Gram -, détruisant d'autres bactéries telles que Salmonella, Shigella ou même d'autres colibacilles.

#### **Technique :**

-Mettre la souche a étudier et la souche témoin (*Escherichia coli* F3, qui produit de la colicine) en agitation dans du BHIB, 4 heures a 35° C.

-Déposer une goutte sur TSA.

-Après 48 heures a 35° C, mettre en agitation *Escherichia coli* J 5 Azide dans du BHIB, dès qu'il y a un léger trouble, diluer une anse d'*Escherichia coli* J 5 Azide dans 10 ml d'eau physiologique, puis déposer une goutte de cette dilution à coté de la souche à étudier et de la souche témoin.

-Incuber 48 heures a 35° C.

-La présence de colicine se traduit par la formation d'une zone d'inhibition d'*Escherichia coli* J 5 Azide à coté de la souche a étudier.

### **II-9/ Electrophorèse sur gel d'agarose :**

#### **1/ Pré-culture d'une nuit en agitation :**

-Ensemencer une colonie dans 5 ml de BHIB.

-Incuber une nuit au bain marie en agitation à 35° C.

#### **2/ Récolte :**

-Centrifuger les bouillons dans des tubes Eppendorf de 1.5 ml pendant 5 min a 12000 Tr/min.

-Jeter le surnageant en versant d'un coup sec dans un bac a jave!, le culot doit rester collé au fond du tube.

-Si nécessaire répéter 2 à 3 fois l'étape de centrifugation après avoir rajouter du bouillon de culture.

### 3/ Extraction de l'ADN plasmidique:

-Resuspendre le culot dans 100  $\mu$ l de TEG + lysozyme (il faut avoir une suspension homogène). Solution I (pour les solutions I, II et III, voir en annexe).

-Ajouter 200  $\mu$ l de tampon de lyse préparer le jour même, mélanger avec précaution en retournant les tubes. Solution II

-A partir de cette étape travailler dans la glace broyée, incuber 10 min a 0° C.

-Ajouter 150  $\mu$ l d'acétate de potassium, agiter manuellement les tubes en les retournants plusieurs fois, la suspension devient floconneuse, incuber 10 min a 0° C. Solution III

-Ajouter 450  $\mu$ l de phénol-chloroforme-acide isoamélique (25-24-1) volume a volume.

-Casser l'émulsion par centrifugation pendant 10 a 15 min.

-Laisser reposer 3 a 5 min, puis récupérer 200 à 300 $\mu$ l du surnageant (sans toucher l'interface) et transférer dans un autre tube Eppendorf.

-En cas d'échec remettre 450  $\mu$ l de phénol-chloroforme et répéter l'extraction.

-Précipiter avec 2 volumes d'éthanol à 100 %.

-Mettre 2 heures a -20° C, ou bien 20 min a -80° C ou bien 5 min a température ambiante.

-Mélanger, ensuite centrifuger pendant 10 min.

-Vider et rincer avec 1000  $\mu$ l d'éthanol à 70 %.

-Centrifuger pendant 5 min, jeter le surnageant et laisser sécher les tubes à l'étuve pendant 15 min ou a température ambiante pendant une nuit.

-Reprendre dans 15 à 20  $\mu$ l de TE + Rnase A et du bleu de bromophénol (à raison de 3  $\mu$ l de bleu pour 10  $\mu$ l de solution).

### 4/ Préparation du gel :

-Additionner 0.7 gramme d'agarose à 100 ml de TBE 1X

-Faire fondre à 100° C pendant 4 min.

-Ramener la gélose d'agarose à 45° C.

-Ajouter du bromure d'éthidium, 2.5  $\mu$ l à partir d'une solution de 10 mg/ml

-Couler le gel

Après que le gel ait refroidi on spot la totalité de la suspension et on laisse incuber 6 heures, avec un courant de 95 mA et un voltage de 90 V.



### 5/ Lecture :

La migration d'une molécule d'ADN est fonction de sa taille mais aussi de sa forme, c'est à dire, de la conformation qu'elle est susceptible d'adopter. Ainsi elle peut exister sous trois formes :

- superhelicoidale ou CCC (Covalently Closed Circular);
- Circulaire ou OC (Open Circular) ,
- linéaire ou L.

La forme CCC migre plus rapidement que la forme OC qui elle même migre plus rapidement que la forme linéaire .

Une fois la migration terminée mettre le gel sur un transilluminateur a ultraviolet (302 nm) et prendre une photo afin de pouvoir déterminer le poids moléculaire des plasmides par la suite.

L'ADN du phage lambda digéré par l'enzyme Hind III, est utilisé comme référence de taille : la taille de ses fragments de restriction est connue et son profil d'électrophorèse permet d'établir une courbe Taille du fragment de restriction = f(distance parcourue au cours de la migration).

Connaissant la taille des fragments de restriction du phage lambda et leur distance du puit de dépôt (tableau n° 6 ) on pourra déterminer la taille des plasmides étudiés par une projection sur la courbe obtenu en utilisant du papier semi logarithmique.

**Tableau N° 6 : Distance des fragments de restriction du phage lambda du puits**

Taille des fragments de restriction (pb)*	23100	9416	6557	4361	2322	2027
Distance du fragment au puits (mm)**	10	12.2	13.3	14.6	16.8	17.5

\* pb : paires de bases

\*\* mm : millimètre

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

## I/ Résultats microbiologiques et antibiorésistance :

Sur les 138 souches qu'on a isolées au niveau du laboratoire vétérinaire régional de Tlemcen isolées l'identification nous a permis de caractériser : 107 E.coli, 11 salmonelles, 8 klebsielles, 7 Enterobacter, 3 pseudomonas et 2 citrobacter.

Un antibiogramme a été effectué sur l'ensemble des souches ; nous avons utilisé une lecture interprétative c'est à dire qu'on détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec ceux des souches de référence souches de référence (E.coli ATCC 25922 pour les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pour les pseudomonas).

Pour les E.coli la fréquence de résistance aux aminosides varie de 2.8 % pour la nétilmicine à 82.24 % pour la streptomycine. La plupart des E.coli étaient résistants a la tétracycline (82.24%) et au nitrofurantoine ( 68.22 %). On observe aussi un pourcentage élevé de résistances a l'ampicilline, ticarcilline et pipéracilline ( respectivement 45.8 %, 44.86 % et 42.05 %), voir tableau N° 7.

Un pourcentage inquiétant de résistance ( 15.88 %) au chloramphénicol sachant que cet antibiotique n'est plus sur le marché « officiel » mondial d'antibiotique destiné aux animaux. On peut dire que c'est soit un foyer de résistance qui n'est pas encore éteint ou qu'il s'agit de vente illégale de cet antibiotique dans les villes frontalières ( Maghnia et Béchar ) comme l'ont cité certains éleveurs de volaille et de bovins qui ont pu se procurer et utilisé cet antibiotique.

Pour les sulfamides nous avons constaté une résistance de 57.94 % alors que pour les quinolones la résistance était de 78.5 % avec un taux incroyable de 89.71 % pour l'acide nalidixique (**Bazile-Pham-Khac -Meders**).

Ceci est dû à l'utilisation massive des quinolones de dernière génération comme l'enrofloxacin, molécule nouvelle et très abondante en Algérie, et des sulfamides chez les animaux (**Bebora**).

Cependant aucune résistance n'as été observée pour le céfotaxime, le céfépime, le céfpirome, le moxalactam , l'imipénème, la ceftazidime et la ceftistine.

Notons que le pourcentage des souches multirésistantes (résistante a plus de 4 antibiotiques) est de 87.85 %.

Tableau N° 7: Pourcentage de résistance de tous les E.coli

Antibiotiques	Nombre de souches résistantes	%
Ampicilline	49	45.8
Ampicilline+ Ac.clavulanique	21	19.62
Ticarcilline	48	44.86
Pipéracilline	45	42.05
Cefazoline	21	19.62
Cefoxitine	7	6.54
Gentamicine	40	37.38
Amikacine	37	34.58
Netilmicine	3	2.8
Streptomycine	88	82.24
Kanamycine	54	50.46
Nitrofurantoïne	73	68.22
Acide nalidixique	96	89.71
Ofloxacine	83	77.57
Ciprofloxacine	73	68.22
Tétracycline	88	82.24
Chloramphénicol	17	15.88
Sulfamides	62	57.94
Triméthoprime	61	57
Cotrimoxazole	66	61.68

Le tableau N° 8 nous montre que le pourcentage de résistance des E.coli dans la wilaya de Tlemcen est plus élevé par rapport aux autres wilayas sauf pour les  $\beta$ -lactamines ou la wilaya de Saida présente le taux le plus élevé.

C'est peut être du a la proximité de la frontière d'ou l'abondance d'antibiotiques provenant du Maroc et vendu sur le marché noir a des prix défilant ceux des vétérinaires de la wilaya poussant les éleveurs a soigner eux mêmes leurs élevages en utilisant des doses élevées d'antibiotiques.

**Tableau N° 8 Pourcentage de résistance des E.coli dans les principales wilayas de l'ouest (Tlemcen, Sidi Bel Abbes , Oran et Saida)**

Antibiotiques	Tlemcen (N=22)		S.B.A (N= 39)		Oran (N= 38)		Saida (N= 5)	
	N de R	%	N de R	%	N de R	%	N de R	%
Ampicilline	13	59	14	35.89	17	44.73	3	60
Ampicilline+ Ac.clavulanique	9	40.9	5	12.82	4	10.52	3	60
Ticarcilline	13	59	14	35.89	16	42.1	3	60
Pipéracilline	12	54.54	13	33.33	15	39.47	3	60
Cefazoline	9	40.9	5	12.82	5	13.15	2	40
Cefoxitine	5	22.7	1	2.56	1	2.63	0	0
Gentamicine	10	45.45	18	46.15	10	26.31	2	40
Amikacine	10	45.45	16	41	9	23.68	2	40
Netilmicine	2	9.09	1	2.56	0	0	0	0
Streptomycine	21	95.45	29	74.35	32	84.21	4	80
Kanamycine	13	59	23	58.97	15	39.47	2	40
Nitrofurantoine	17	77.27	28	71.8	24	63.15	2	40
Acide nalidixique	21	95.45	36	92.3	32	84.21	5	100
Ofloxacine	21	95.45	28	71.8	28	73.68	4	80
Ciprofloxacine	19	86.36	25	64.1	23	60.52	4	80
Tétracycline	21	95.45	30	76.92	30	78.94	4	80
Chloramphénicol	5	22.72	7	17.94	5	13.15	0	0
Sulfamides	14	63.63	21	53.84	22	57.89	3	60
Triméthoprime	17	77.27	17	43.58	22	57.89	3	60
Cotrimoxazole	16	72.72	22	56.41	23	60.52	3	60

N de R : nombre de souches résistantes ; N : nombre de souches par wilaya.

On remarque que la seule souche isolée de la wilaya de Naâma n'est sensible qu'aux furanes, tandis que les souches provenant de Mostaganem et Ain Temouchent présentent des phénotypes de résistance presque identique à ceux des autres wilayas.

Les salmonelles présentent une résistance de 63.63 % à l'acide nalidixique, la ciprofloxacine, l'ofloxacine et les furanes, ainsi que 27.27 % pour la streptomycine cela suppose une utilisation abusive des quinolones et des furanes dans le cas où il y a suspicion de salmonelloses de la part des éleveurs, afin de ne pas voir tout son élevage détruit l'éleveur est prêt à détourner la loi concernant les maladies à déclarations obligatoires, seul un examen bactériologique de la moelle osseuse pourrait confirmer la présence de salmonelles (voir tableau N° 16 en annexe).

Tous les Enterobacter isolés sont résistants à l'ampicilline, l'amoxicilline+acide clavulanique, la cefoxitine, la cézoline et aux furanes. Par contre aucune résistance pour la gentamicine, l'amikacine et la kanamycine n'a été observée, tandis que 42.85 % des souches sont résistantes à l'acide nalidixique et la ciprofloxacine.

En ce qui concerne les klebsiella nous n'avons aucune résistance pour la gentamicine, amikacine et la kanamycine alors que toutes les souches sont résistantes à l'ampicilline et la tétracycline, tandis que 62.5 % des souches sont résistantes à la streptomycine, 87.5 % aux furanes et à l'acide nalidixique, 75 % pour la ciprofloxacine et 50 % pour l'ofloxacine.

La détermination des concentrations minimales inhibitrices a été effectuée sur certaines souches posant un problème de lecture lors de l'antibiogramme (tableaux N° 9, 10, 11 et 12) .

La lecture des résultats des CMI s'est faite en interprétative, c'est à dire un écart supérieur ou égal à deux dilutions entre les valeurs de CMI des souches testées et celle de la souche de référence (ATCC 25922), elle nous a permis d'avoir pour le chloramphénicol 86.36 % de résistance pour les souches ayant une CMI de plus de 8 µg/ml.

Pour la ciprofloxacine et la tétracycline les CMI déterminant la résistance des souches testées étaient respectivement de 0.063 et 8 µg/ml, ces concentrations nous ont permis d'avoir 95.18% de résistance pour la ciprofloxacine et 95.34 % pour la tétracycline.

Les CMI pour l'acide nalidixique et l'ofloxacine étaient de 8 µg/ml et 0.25 µg/ml ce qui a conduit à une résistance de 40.62 % pour l'acide nalidixique et 15.62 % pour l'ofloxacine.

**Tableau N° 9 : Valeurs des CMI pour le chloramphénicol**

Numéro de la souche	Valeur de la CMI en $\mu\text{g/ml}$
ATCC 25922	4
408	4
568	4
537	4
657	8
638	8
715	8
596-3	8
596-5	8
596-6	8
717	8
18-2	8
2	8
1426	8
211-3	8
413	8
387-2	8
575	8
679	16
503	16
582	16
1283	>128
185	>128

Après vérification que la valeur de la souche témoin correspond aux normes, nous avons effectué une lecture interprétative, c'est à dire un écart supérieur ou égal a deux dilutions pour avoir le maximum de résistance, et ceci pour toutes les CMI (tableaux 9, 10, 11 et 12).

Les valeurs de la souche de référence doivent être compris dans les intervalles suivants :

	( $\mu\text{g/ml}$ )
Chloramphénicol	2 – 8
Tétracycline	0.5 – 2
Acide nalidixique	1 – 4
Ofloxacine	0.015 – 0.12
Ciprofloxacine	0.004 – 0.016

**Tableau N° 10 : Valeurs des CMI pour la Tétracycline**

Numéro de la souche	CMI Tétracycline en µg/ml	Numéro de la souche	CMI Tétracycline en µg/ml
ATCC 25922	1	339	64
328	2	405	64
414 -2	2	1130	128
717	2	673	128
240	2	1137	128
1159	8	427	128
513	8	396	128
430	8	173	128
362	8	387-2	128
265	8	715	128
1282	8	358	128
1309	8	596-5	128
329	8	338	128
302	8	413	128
126	8	1453	128
95	8	20	128
238	8	1405	128
541-2	8	679	128
442	8	211-3	128
1129	16	1310	128
503	16	1197	128
172-6	16	205	128
2	16	596-2	128
79-2	16	393	128
1426	16	676	128
1246	16	204	128
1425	16	1192	128
452	16	170	128
480	16	1160	128
386	16	355	128
1249	16	303	128
458	16	596-3	128
657	64	172-7	128
538	64	127	128
438	64	185	128
537	64	387-2	250
536	64	596-6	250
735	64	1422	250
1424	64	223	250
439	64	1107	250
420	64	360	250
568	64	582	500
315	64	680	500
		1283	500



**Tableau N°11 : Valeurs des CMI pour l'acide nalidixique et l'ofloxacine**

N° de la souche	Acide nalidixique µg/ml	Ofloxacine µg/ml
ATCC 25922	2	0.063
1196	4	0.032
657	8	0.25
452	4	0.063
537	4	0.063
1246	4	0.125
541-2	4	0.063
458	8	0.25
672	4	0.125
B <sup>1</sup> :8	128	0.25
1166	4	0.063
302	8	0.063
1259	4	0.125
126	4	0.125
1249	8	0.125
341	4	0.125
575	>128	2
698	4	0.063
1225	8	0.125
1129	8	0.125
1296	8	0.125
18-1	8	0.125
386	4	0.063
1223	8	0.125
480	8	0.125
217	8	0.125
717	4	0.063
585	2	0.25
330	4	0.063
442	4	0.063
638	4	0.063
389	4	0.063

**Tableau N°12 : Valeurs des CMI pour la Ciprofloxacine**

N° de la souche	CMI cipro en µg/ml	N° de la souche	CMI cipro en µg/ml
ATCC 25922	≤ 0.016	18-2	0.5
438	≤ 0.016	596-6	1
538	0.032	582	1
1282	0.063	596-3	1
679	0.063	680	1
439	0.125	265	2
387-2	0.125	479	2
420	0.125	482-1	2
1192	0.125	1453	2
412	0.125	338	8
1137	0.125	1309	8
211-3	0.125	1246	8
405	0.125	396	8
355	0.125	1422	8
413	0.25	1107	8
715	0.25	339	8
1160	0.25	393	16
223	0.25	360	16
362	0.25	54	16
735	0.25	172-6	16
303	0.25	414-1	16
1425	0.25	441	16
F/S	0.25	205	16
391	0.25	172-7	16
1127	0.25	1310	16
218	0.25	427	16
1424	0.25	204	16
430	0.25	536	16
2	0.25	1283	16
414-2	0.25	673	16
476	0.25	596-2	16
568	0.25	387-3	16
295	0.25	1130	16
1159	0.25	173	16
513	0.25	1197	16
20	0.25	676	16
358	0.25	185	16
367	0.5	79-2	16
503	0.5	315	16
170	0.5	596-5	16
1405	0.5	509	64
537	0.5	127	64

## II/ Résultats sérologiques :

Le sérotypage des E.coli par agglutination dans les sérums O1 K1, O2 K1 et O78K80 nous a permis d'obtenir 24 souches agglutinables dont 11 sont de sérotypes O78K80, 9 sont de sérotypes O1K1 et quatre sont de sérotypes O2K1( voir tableau N° 13), résultats qui concordent avec ceux obtenus par **Guïrov et Filali** .

Nous constatons que presque toutes les souches sérotypées sont multirésistantes à l'exception d'une souche qui est résistante uniquement au nitrofurantoïne.

**Tableau N° 13 : Sérotypes identifiés dans les différentes wilayas**

Numéro de la souche	Sérotipe	Région
173	O78K80	Tlemcen
218	O78K80	Sidi Bel Abbés
355	O78K80	Oran
405	O78K80	Oran
585	O78K80	Oran
672	O78K80	Sidi Bel Abbés
673	O78K80	Tlemcen
735	O78K80	Tlemcen
1166	O78K80	Oran
1197	O78K80	Sidi Bel Abbés
1310	O78K80	Sidi Bel Abbés
223	O1K1	Oran
360	O1K1	Oran
387-2	O1K1	Sidi Bel Abbés
430	O1K1	Sidi Bel Abbés
503	O1K1	Sidi Bel Abbés
536	O1K1	Tlemcen
575	O1K1	Saida
632	O1K1	Naama
679	O1K1	Oran
358	O2K1	Sidi Bel Abbés
391	O2K1	Sidi Bel Abbés
414-2	O2K1	Saida
441	O2K1	Sidi Bel Abbés

L'étude des sérotypes nous a permis d'avoir 45.83 % des souches de sérotypes O78K80, ce qui nous permet de dire que c'est le sérotipe dominant, suivi par le sérotipe O1K1 avec 37.5% et enfin le sérotipe O2K1 avec 16.66%

### III/ Etude du transfert plasmidique et détermination du groupe des plasmides :

Le transfert a été effectué sur des souches présentant une résistance au chloramphénicol puis étendu aux E.coli présentant des multirésistances.

Au total 48 E.coli ont transféré un ou plusieurs marqueurs. Les résultats du transfert montrent que les marqueurs les plus fréquemment transférés sont A.S.Te.Su.Tmp avec une proportion de 18.46% ils sont suivi par les marqueurs Su.Tmp avec 12.3 % (tableau N°14). **(Wooley)**

La haute fréquence de ces plasmides, ainsi que leurs présence dans les différentes wilayas étudiées, laisse penser qu'il pourrait s'agir d'une épidémie de résistance.

Néanmoins le caractère triméthopime est présent chez 86.15 % des transconjugants, la présence de la tétracycline est décelée chez 50.77 %, celle des sulfamides chez 78.46 % et enfin l'ampicilline chez 43.07 % des transconjugants. Leur présence s'explique par le fait qu'ils sont portés par des caractères facilement disséminant ; et l'utilisation abusive des antibiotiques en tant que facteurs de croissance et de prévention fait qu'il y a toujours un réservoir de résistance et une dissémination des plasmides.

Notons que certains caractères comme l'acide nalidixique, la ciprofloxacine et les furanes ne sont pas transférables.

**Tableau N° 14 : Nombre et pourcentage des marqueurs plasmidiques transférés**

Marqueurs plasmidiques	Nombre	Pourcentage
ASTeSuTmp	12	18.46
SuTmp	8	12.30
SsuTmp	6	9.23
STeSuTmp ASuTmp	4	6.15
STmp	3	
ASKTeSuTmp	3	
ASCTeSuTmp	3	4.61
S	3	
TeSuTmp	2	
ATeSuTmp	2	3.08
Te	2	
ASSuTmp	2	

SSuTe		1.53
ASCSuTmp		
ACTmp		
TeTmp		
STeTmp		
K		
KTmp		
TeSu		
GeSKCTeSu		
GeSKCSu		
KTeTmp		

Le groupage des plasmides obtenus avec les plasmides de référence offert par l'IPA nous a permis de déterminer le groupe Inc auquel appartient tous ces plasmides (figures N° 1 et 2 pour le Com1, 3 et 4 pour le F1). A l'exception de quatre plasmides, tous les autres ont été groupés, (tableau N° 15)

Il s'agit de groupes de la famille Com1 et F1, comme il a déjà été décrit en littérature par **Chalus-Dancla** en France en 1980 , ou il a été mis en évidence la présence des groupes Com1 et F1, et **Moufi et Karaoui** en Algérie en 2001 qui ont pu déterminer le groupe Com1.

Le test de la colicine a été effectué sur toutes les souches d'E.coli ayant transférées. Sachant que le gène codant pour la colicine peut être attaché au gène de résistance aux antibiotiques (R plasmid), nous avons recherché la production de colicine chez les transconjugants obtenus à partir du transfert de l'antibiorésistance et leur souches sauvages.

Le tableau N° 15, révèle que sur les 48 souches sauvages 17 ont produits des colicines, et seulement 3 transconjugants sont colicines positifs.

Ces résultats nous laissent supposer que l'antibiorésistance et la production de colicine sont 2 caractères portés par les mêmes structures plasmidiques ; même si c'est a faible fréquence.

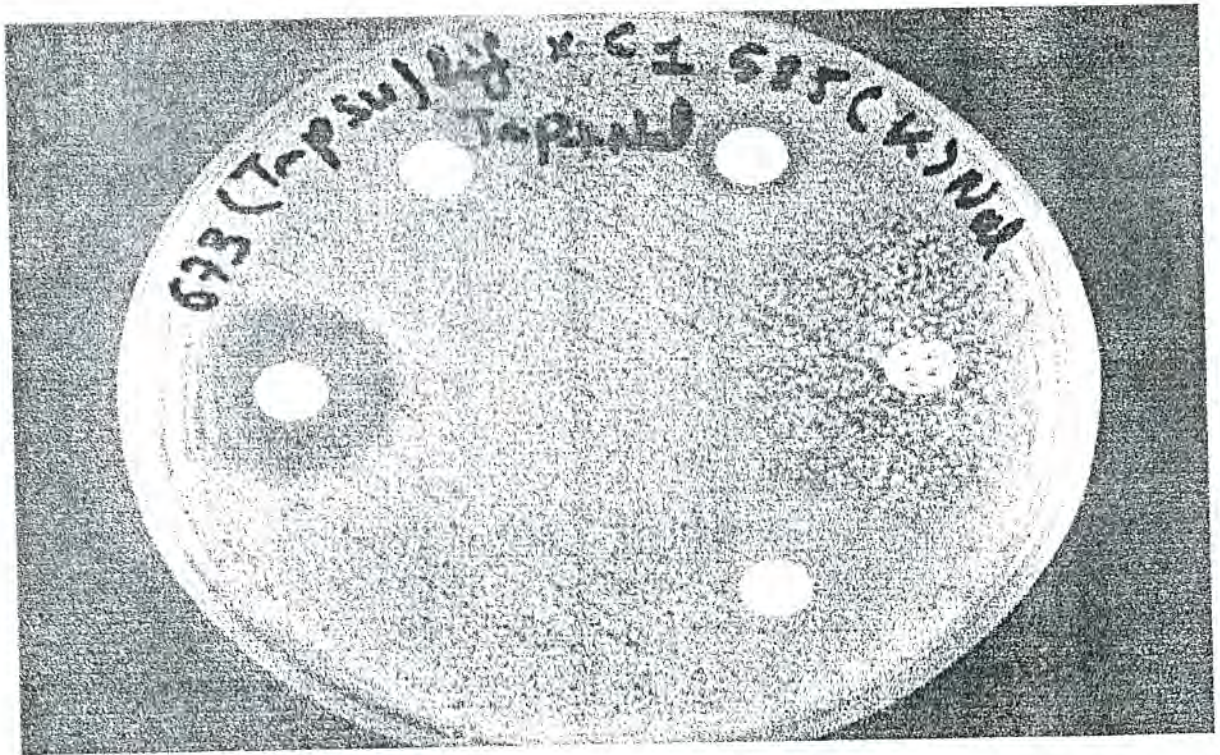


Fig. N° 1 : Groupage du transconjugant E.coli 673(TmpSu) dans C 600Rif avec le Com1 525(K) dans E.coli K12 Nal.

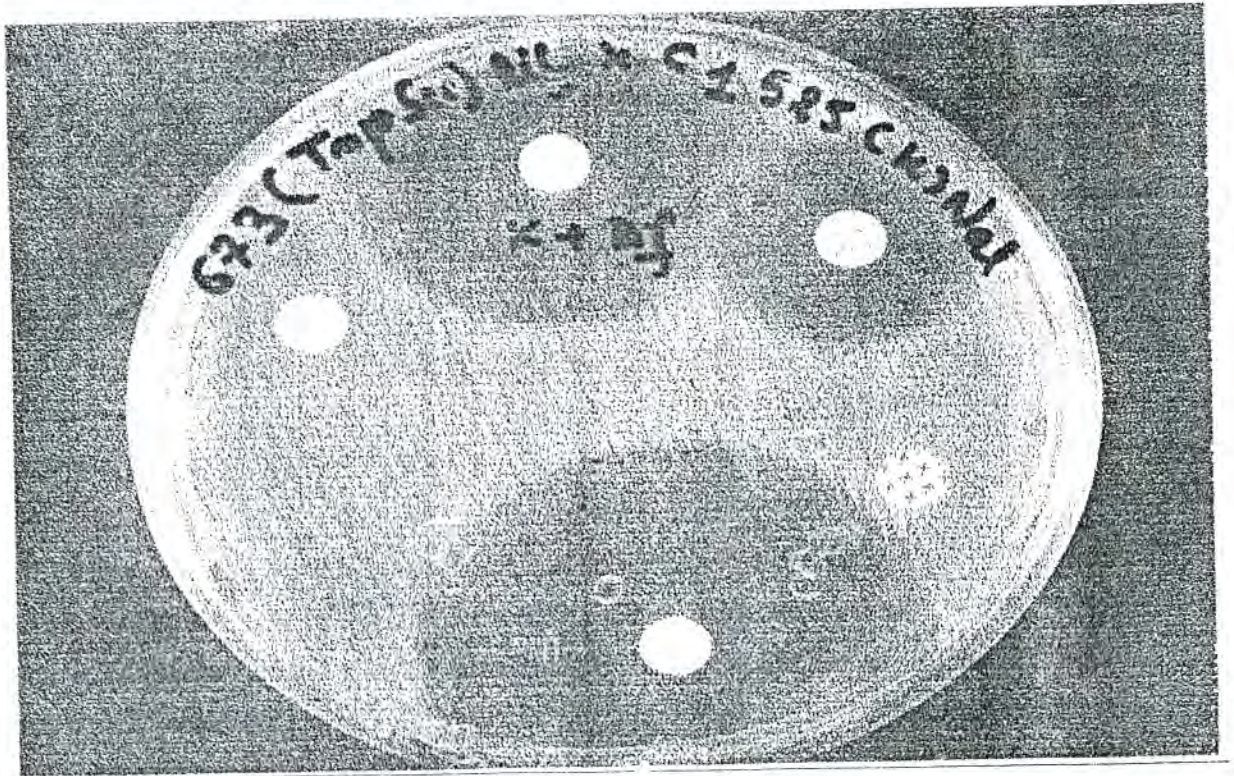


Fig N° 2 : Groupage du transconjugant E.coli 673(TmpSu) dans C 600Rif avec le Com1 525(K) dans E.coli K12 Nal dans le sens opposé.

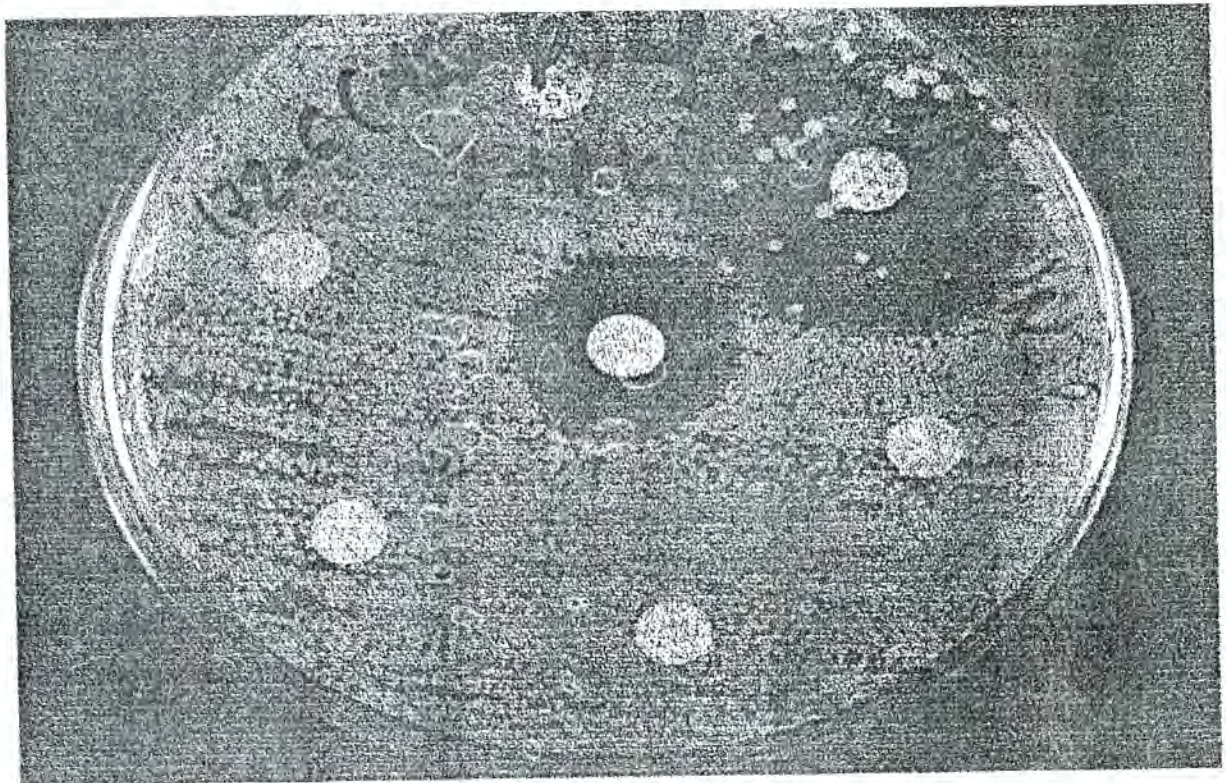


Fig. N<sup>o</sup> 3: Groupage du transconjugant E.coli 172-6 (ASSuTmp) dans C 600Rif avec le F1 386 (K) dans E.coli K12 Nal, boîte de sélection S + Rif.

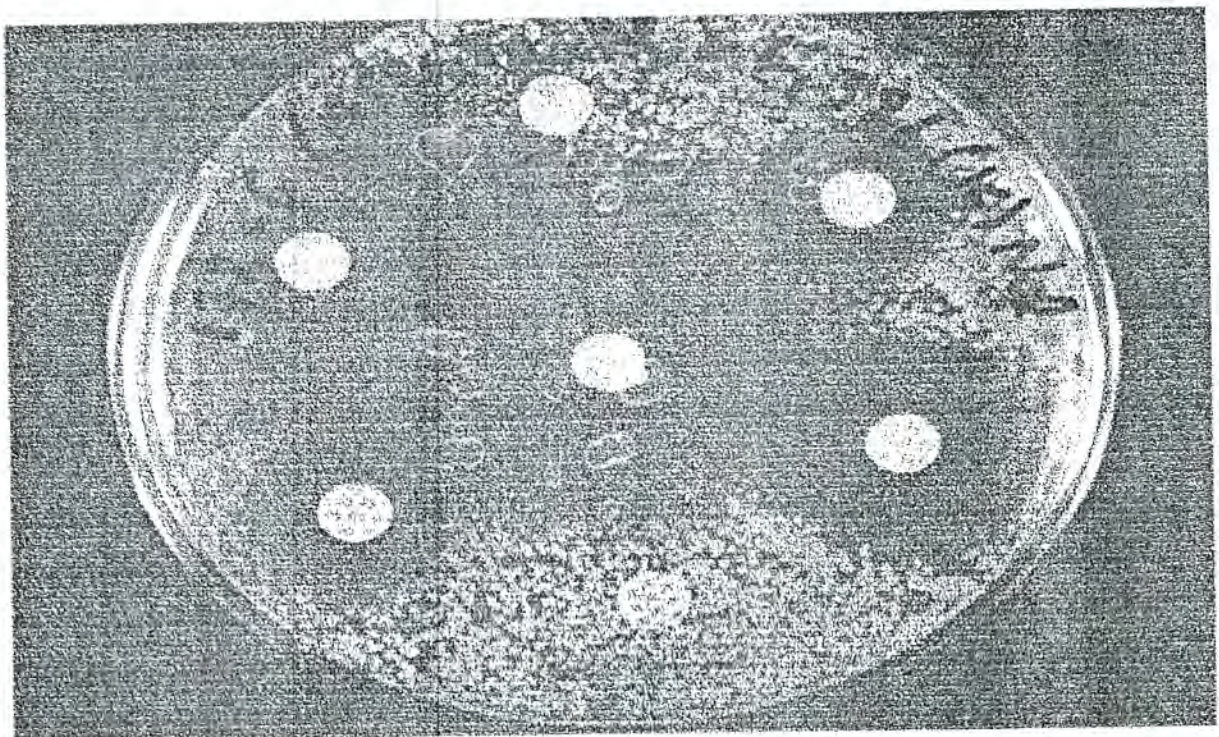


Fig. N<sup>o</sup> 4: Groupage du transconjugant E.coli 172-6 (ASSuTmp) dans C 600Rif avec le F1 386 (K) dans E.coli K12 Nal, boîte de sélection K + Rif.

#### IV/ Biologie moléculaire :

L'électrophorèse sur gel d'agarose, a été réalisée sur les souches sauvages ayant transférées et sur leur transconjugants, afin de déterminer le poids moléculaire des plasmides de résistance.

Le phage  $\lambda$  Hind III a été utilisé comme marqueur de taille ; sachant que le poids moléculaire des bandes produites est connu, on peut déterminer le poids moléculaire de nos plasmides par une extrapolation sur la courbe :

Taille du fragment de restriction = f (distance parcourue au cours de la migration).

L'intensité de fluorescences des bandes est proportionnelles à la quantité d'ADN, donc à la taille des fragments. Plus les fragments d'ADN sont petits, plus ils migrent et moins les bandes correspondantes sont fluorescentes car elles contiennent moins d'ADN et donc fixent moins le bromure d'éthidium (figure N° 5) .

Les résultats de l'électrophorèse montre que certaines souches étudiées présentent 1 a 6 bandes d'ADN plasmidiques avec des poids moléculaires allant de < 2.02 a 89 kb. Notons qu'il y a différents profils plasmidiques pour les 48 souches étudiées, avec un pourcentage élevé pour les plasmides a faibles poids moléculaire, cela suppose que dans notre cas les caractères de résistance sont disséminés par les petits plasmides, ce qui explique la forte multirésistance des souches obtenus (**Ifigenia - S. Kariuki**) .



**Tableau N° 15 : Phénotypes, groupage et test a la colicine des souches avant transférées et de leurs transconjugants**

Date de Pvt	Région	Numéro	Phénotypes. sauvages	Phénotypes. transconjugants	Groupage	Colicine	
						S	T
15/10/00	S.B.A	1107	ASKCTeSuTmpNalCip	SSuTeRif	F1	+	-
14/05/00	S.B.A	503		SRif	F1	-	-
21/02/01	S.B.A	185	ASKCSuTmpNalCip	ASCSuTmpRif	F1	+	-
18/04/01	S.B.A	441		ACTmpRif	F1	-	-
07/01/01	Saida	20	SteSuTmpNalCip	SuTmpRif	C1	+	-
				TeSuTmpRif	C1		-
24/01/01	Oran	79-2		SSuTmpRif	C1	-	-
03/02/01	Oran	127	ASKTeSuTmpFuNalCip	ASuTmpRif	F1	-	-
24/02/01	S.B.A	204	ASTEsuTmpNalCip	ASTEsuTmpRif	C1	-	-
17/04/01	S.B.A	439		ASuTmpRif	C1	+	+
				ATEsuTmpRif	C1		+
				TeNal	ng		
24/02/01	Tlemcen	205	ATEsuTmpFuNalCip	ASTEsuTmpRif	F1	-	-
28/03/01	Tlemcen	367		ASSuTmpRif	F1	-	-
				SuTmpRif	C1		-
17/04/01	Tlemcen	438		ASuTmpRif	C1	+	+
				SSuTmpRif	C1		-
18/04/00	Saida	414-1		STeTmpRif	F1	+	-
14/03/01	Oran	303		ASTEsuTmpRif	F1	+	-
29/03/00	Oran	339		ASTEsuTmpRif	F1	-	-
11/04/01	Oran	405		ASTEsuTmpRif	F1	-	-
21/12/00	Oran	1405		ASuTmpRif	C1	+	-
28/02/01	Oran	223		ASTEsuTmpRif	F1	-	-
19/02/01	Oran	172-6		ASSuTmpRif	F1	-	-
23/05/00	Tlemcen	538		AGeSKAmkTeSuTmpFuNalCip	ATEsuTmpRif	F1	-
				STeSuTmpRif	F1		-

05/06/00	Tlemcen	596-3	AGeSKAmkTeSuTmpFuNalCip	ASuTmpRif	C1	-	-
				STmpRif	F1		-
05/06/00	Tlemcen	596-4		ASuTmpRif	F1	-	-
05/06/00	Tlemcen	596-5		SSuTmpRif	C1	-	-
20/06/00	S.B.A	680		ASuTmpRif	F1	-	-
11/04/00	Oran	389		ASKTeSuTmpRif	ng	-	-
26/03/00	S.B.A	330		SSuTmpRif	C1	-	-
26/03/00	S.B.A	328	SSuTmpRif	C1	-	-	
12/04/00	Oran	393	GeSKAmkTeSuTmpFuNalCip	STeSuTmpRif	F1	-	-
				SuTmpRif	C1		-
29/04/01	Tlemcen	481-2	STeSuTmpFuNalCip	SuTmpRif	C1	+	-
24/03/01	Tlemcen	362		TeSuTmpRif	C1	+	-
				SuTmpRif	C1		-
17/02/01	Oran	170		TeRif	ng	-	-
25/10/00	Oran	1137	STeTmpNalCip	SRif	F1	-	-
01/04/00	Oran	355		STmpRif	F1	-	-
19/02/01		172-7	ASKTeSuTmpNalCip	ASuTmpRif	F1	-	-
				TeTmpRif	ng		-
28/06/00		735		ASuTmpRif	F1	-	-
03/12/00	Tlemcen	1309	ASKCSuNalCip	KRif	F1	-	-
18/06/00	Tlemcen	673	AGeAmkSKTeSuTmpNalCip	ASuTmpRif	F1	+	-
				SuTmpRif	C1		-
20/06/00	Oran	679	SKCTeTmpNalCip	SRif	F1	+	-
10/05/00	Oran	509	ASKCTeSuTmpFuNalCip	ASuTmpRif	F1	-	-
14/01/01	Oran	54	ASKCTeTmpFuNalCip	KTmpRif	C1	+	-
07/01/01	Oran	19	TeSuTmpNal	SuTmpRif	C1	+	-
29/03/00	Oran	341	GeSKTeSuTmpFuNalCip	STeSuTmpRif	C1	-	-
31/10/00	Oran	1166	ASKTeSuTmp	ASKTeSuTmpNal	ng	+	-
30/12/00	Oran	1453	ASuTmpNalCip	ASuTmpRif	F1	-	-
29/11/00	S.B.A	1283	GeSKCTeSuNalCip	GeSKCTeSuRif	C1	-	-
				GeSKCSuRif	C1		-

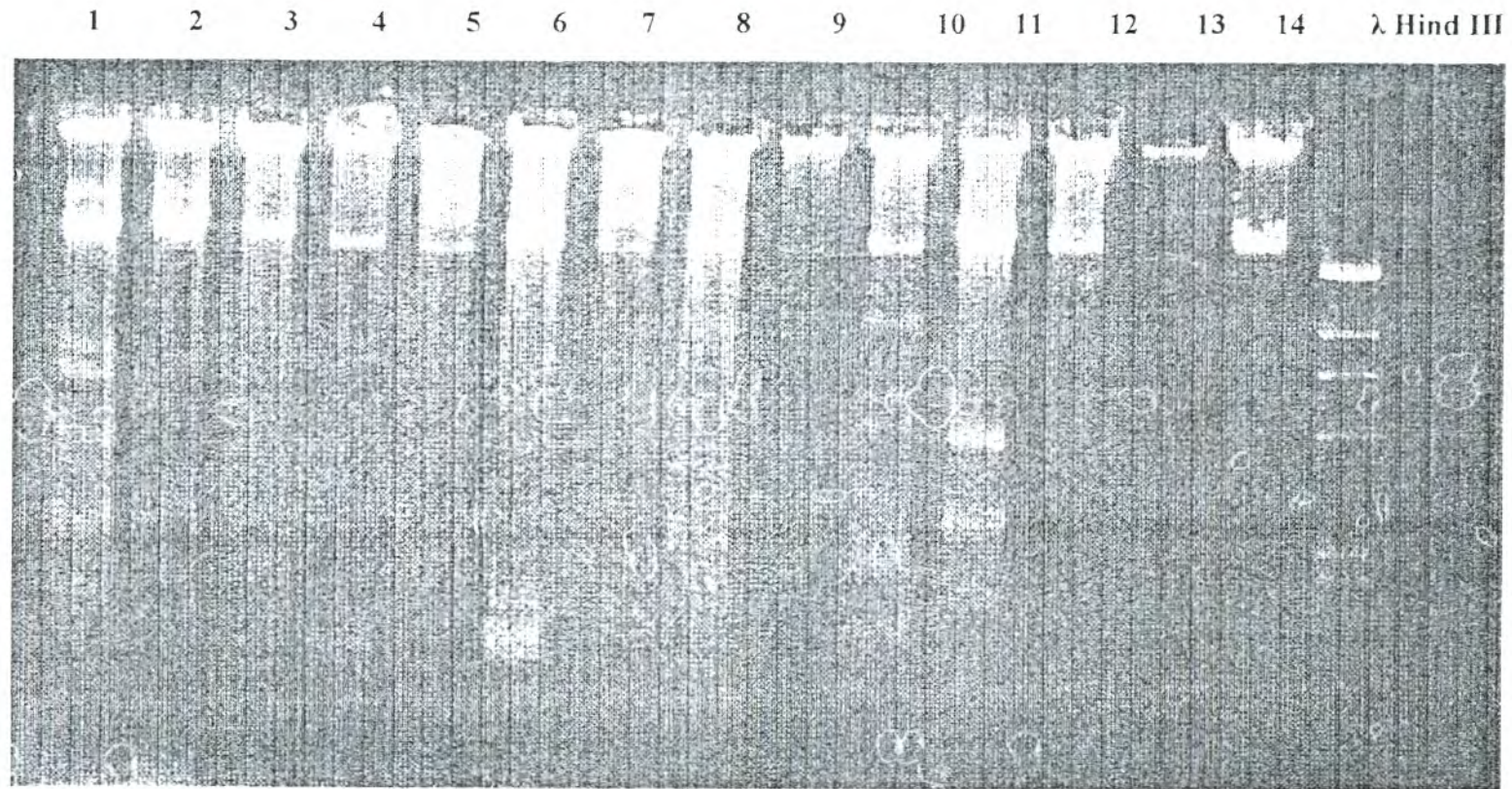
29/03/00	S.B.A	338	ASKCTeSuTmpNalCip	ASCTeSuTmpRif TmpSuRif	F1 C1	- -	- -
19/03/00	S.B.A	295	STeSuTmpNalCip	SSuTmpRif	C1	+	-
18/04/00	Saida	413	AGeSKAmkTeSuTmpNalCip	ASKTeSuTmpRif StmpRif KTeTmpRif	ng F1 ng	+	- - -

Pvt : Prélèvement

S : souche sauvage

T : Transconjugant

ng : non groupés



47

1: 393 s ; 2: 393 (SSuTeTmp)Rif ; 3: 393 (SSuTmp)Rif ; 4: 330 s ; 5: 330 (SSuTmp)Rif ; 6: 328 s ; 7: 328 (SSuTmp)Rif ; 8: 596-3 s ; 9: 596-3 (STmp)Rif ; 10: 596-3 (ASuTmp)Rif ; 11: 596-4 s ; 12: 596-4 (ASTeSuTmp)Rif ; 13: Com1525 (K)Nal ; 14: F1 386 (Te)Rif.  
 s: souche sauvage.

**Fig N° 5:** Electrophrèse sur gel d'agarose, avec le phage  $\lambda$  Hind III comme marqueur de taille.

# CONCLUSION

## Conclusion

L'étude de l'antibiorésistance des 138 Entérobactéries isolées de la volaille, nous a permis de faire les remarques suivantes :

- La presque totalité des souches sont multirésistantes avec des caractères facilement transférables.
- La résistance est d'autant plus élevée dans les villes frontalières, ce qui laisse à penser qu'un vaste trafic d'antibiotiques en provenance du Maroc a été mis sur pied, chose confirmée par certains éleveurs de ces régions et par le fait de trouver des résistances au chloramphénicol et aux nitrofurantoines, molécules bannies dans le monde depuis presque une décennie.
- L'utilisation des antibiotiques par les éleveurs sans avis du vétérinaire est une pratique qui devient de plus en plus courante, ce qui permet à l'éleveur de diminuer ses pertes dans le cas d'une colibacillose ou salmonellose, sans savoir qu'il contribue à l'émergence et à la prolifération de nouvelles souches multirésistantes.
- Tous les plasmides trouvés appartiennent aux groupes Com1 et F1, ce qui laisse supposer qu'ils seraient spécifiques aux volailles.

En perspective à cette étude de la résistance des entérobactéries d'origine aviaire, il serait intéressant :

- d'augmenter le nombre d'échantillons, et de faire l'étude sur tout le territoire national.
- arrêt ou élimination rapide de l'emploi des antimicrobiens comme facteurs de croissance s'ils sont utilisés également en médecine humaine.
- créer des systèmes nationaux de suivi de l'utilisation des antimicrobiens chez les animaux d'élevage.
- prescription obligatoire pour tous les antimicrobiens utilisés dans le traitement des maladies des animaux d'élevage.
- conseils à l'intention des vétérinaires afin de réduire l'utilisation abusive et erronée des antimicrobiens chez les animaux d'élevage.
- organiser une meilleure formation des éleveurs sur la prévention des infections et un usage prudent des antibiotiques.
- éradiquer le trafic d'antibiotiques dans notre pays.

# ANNEXES

Tableau N° 16 : Pourcentage de résistance des Salmonelles, Enterobacter et Klebsielles.

Antibiotiques	Salmonelles (N=11)		Enterobacter (N= 7)		Klebsielles (N= 8)	
	N de R	%	N de R	%	N de R	%
Ampicilline	0	0	7	100	8	100
Ampicilline+ Ac.clavulanique	0	0	7	100	2	25
Ticarcilline	0	0	0	0	6	75
Pipéracilline	0	0	0	0	1	12.5
Cefazoline	0	0	7	100	2	25
Cefoxitine	0	0	7	100	2	25
Cefotaxime	0	0	0	0	0	0
Cefepime	0	0	0	0	0	0
Cefpirome	0	0	0	0	0	0
Moxalactam	0	0	0	0	0	0
Imipéneme	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0
Amikacine	0	0	0	0	0	0
Netilmicine	0	0	0	0	0	0
Streptomycine	3	27.27	2	28.57	5	62.5
Kanamycine	0	0	0	0	0	0
Nitrofurantoine	7	63.63	7	100	7	87.5
Acide nalidixique	7	63.63	3	42.85	7	87.5
Ofloxacine	7	63.63	1	14.28	4	50
Ciprofloxacine	7	63.63	3	42.85	6	75
Colistine	0	0	0	0	0	0
Tétracycline	0	0	6	85.71	8	100
Chloramphénicol	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	0	0	1	14.28	3	37.5
Triméthoprime	0	0	0	0	3	37.5
Cotrimoxazole	0	0	0	0	3	37.5

N de R : nombre de souches résistantes.



**Tableau N°17 : Résultats d'antibiogramme de toutes les souches étudiées**

Numero	Souche	Wilaya	Organe	AMP	AMC	TIC	PIP	CZ	FOX	GM	AM	NETS	S	K	FUN	NAL	OFLO	CIP	TE	C	SSS	TM	PS	SXT
1	S.G.P	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	S.enteritidis	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
3	S.G.P	Oran	Rate	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	S.infantis	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
9	S.enteritidis	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
12	S.G.P	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
17	S.G.P	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
18,1	E.asburiae	Oran	Foie	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S
18,2	S.G.P	S.B.A	Rate	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
19	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R
20	E.coli	Saida	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R
54	E.coli	Oran	Rate	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
79,1	P.aeruginosa P6	Oran	Rate			R	S			S	S	S						S						R
95	E.amniginus	Tlemcen	Foie	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
126	E.cloacae	Oran	Foie	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S
127	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
138	E.coli	Oran	Foie	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
150	P.aeruginosa P6	Oran	Rate			R	S			S	S	S						S						S
151	E.coli	Oran	Rate	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
170	E.coli	Oran	Rate	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
173	E.coli	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S
185	E.coli	S.B.A	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
202	E.coli 2	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
204	E.coli	S.B.A	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R
205	E.coli	Tlemcen	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
217	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
218	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S

222	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
223	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
238	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S
240	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
265	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
295	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R
302	E.cloacae	Oran	Foie	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S
303	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
315	E.coli	Mostaganem	Rate	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R
328	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R
329	E.coli	S.B.A	Rate	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S
330	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R
338	E.coli	S.B.A	Rate	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
339	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
341	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R
355	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R
358	E.coli	S.B.A	Rate	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
360	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
362	E.coli	Tlemcen	Rate	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
367	E.coli	Tlemcen	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R
386	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S
387,2	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
387,3	E.coli	S.B.A	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R
389	E.coli	Oran	Foie	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R
391	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S
393	E.coli	Oran	Rate	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
396	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
405	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
408	E.coli	S.B.A	Foie	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	S	R
412	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S

413	E.coli	Saida	Foie	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	
414,1	E.coli	Saida	Foie	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
414,2	E.coli	Saida	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S
420	K.oxytoca	Oran	Rate	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
427	E.coli	Oran	Rate	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
430	E.coli	S.B.A	Rate	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
438	E.coli	Tlemcen	Os	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R
439	E.coli	S.B.A	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R
441	E.coli	S.B.A	Os	R	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R
442	E.asburiae	S.B.A	Foie	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S
452	K.oxytoca	Oran	Foie	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S
458	K.oxytoca	Oran	Foie	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S
459	P.aeruginosa	Oran	Foie			S	S			S	S	S						S					R
476	S.G.P	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S
479	S.G.P	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S
480	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S
503	E.coli	S.B.A	Rate	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S
509	E.coli	Oran	Foie	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
513	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S
536	E.coli	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
537	E.coli	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
538	E.coii	Tlemcen	Foie	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R
541,1	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
541,2	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S
568	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S
575	E.coli	Saida	Foie	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S
579	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
582	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
585	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
596,2	E.coli	Tlemcen	Foie	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

596,3	E.coli	Tlemcen	Foie	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
596,4	E.coli	Tlemcen	Foie	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
596,5	E.coli	Tlemcen	Foie	R	S	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
596,6	E.coli	Tlemcen	Foie	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
632	E.coli	Naama	Os	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	
638	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S
657	E.cloacae	S.B.A	Foie	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S
658	E.cloacae	Oran	Foie	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
672	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	S	R
673	E.coli	Tlemcen	Foie	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
676	E.coli	Tlemcen	Foie	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
679	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S
680	E.coli	S.B.A	Foie	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
698	E.coli	Oran	Rate	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S
715	E.coli	Oran	Foie	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
717	E.coli	S.B.A	Rate	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R
735	E.coli	Tlemcen	Foie	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R
1107	E.coli	S.B.A	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1127	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S
1129	K.pneumoniae	S.B.A	Foie	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S
1130	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1137	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R
1159	E.coli	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S
1160	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
1166	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R
1192	E.coli	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S
1196	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
1197	E.coli	S.B.A	Foie	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
1223	C.amanolaticus	Oran	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S
1225	E.coli	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	S	R

1246	K.oxytoca	Oran	Rate	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S
1249	E.coli	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S
1259	E.coli	Oran	Rate	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S
1282	C.amanolaticus	Tlemcen	Rate	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S
1283	E.coli	S.B.A	Foie	R	S	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
1296	K.oxytoca	Oran	Rate	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	R	S	R	R
1309	E.coli	Tlemcen	Foie	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
1310	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S
1405	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R
1422	K.oxytoca	Oran	Foie	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R
1424	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
1425	E.coli	S.B.A	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	S
1426	K.oxytoca	Saida	Foie	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S
1453	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R
172.6	E.coli	Oran	Foie	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R
172.7	E.coli	S.B.A	Foie	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R
211.3	E.coli	S.B.A	Foie	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S
481.2	E.coli	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R
79.2	E.coli	Oran	Rate	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R
B:8	S.brunei	Mascara	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S
F/S	E.coli	Tlemcen	Foie	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S

AMP : Ampicilline, AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique, TIC : Ticarcilline, PIP : Pipéracilline, CZ : Cefazoline, FOX : Cefoxitine, GM : Gentamicine, AM : Amikacine, NET : Netilmicine, S : Streptomycine, K : Kanamycine, FU : Nitrofurantoine, NAL : Acide nalidixique, OFLO : Ofloxacin, CIP : Ciprofloxacine, TE : Tétracycline, C : Chloramphénicol, SSS : Sulfamides, TMP : Triméthoprime, SXT : cotrimoxazole.

S.B.A : Sidi-bel-abbès.

Pour les E.coli aucune résistance n'as été observée pour le céfotaxime, le céfépime, le céfpirome, le moxalactam , l'imipénème, la ceftazidime et la colistine.

## Milieux utilisés

Tous les milieux utilisés ont été fabriqués au service de milieux de culture de l'Institut Pasteur d'Algérie (Melzi).

### A/ Les milieux d'enrichissement :

#### 1/ Bouillon de Rappaport :

Sert à l'enrichissement sélectif des salmonelles dans les matières fécales, les aliments et d'autres matériels.

#### Composition

- Peptone de caseine	5 g
- NaCl	8 g
- Phosphate dipotassique	0.8 g
- Chlorure de magnésium	40 g
- Vert malachite	0.12 g
- pH= 6 ± 0.1	

### B/ Les milieux d'isolements :

#### 1/ Gélose Hektoen :

La gélose Hektoen est un milieu de choix pour l'isolement des entérobactéries pathogènes : la présence d'extrait de levure et de sucres, la qualité des peptones favorise la croissance des Salmonelles et des Shigelles même fragiles. Les sels biliaires assurent le pouvoir sélectif en limitant le développement des coliformes et de Proteus.

#### Composition :

- Peptone pepsique de viande	15 g
- Extrait de viande	3 g
- Extrait de levure	3 g
- Lactose	12 g
- Salicine	2 g
- Saccharose	12 g
- NaCl	5 g
- Sels biliaires	4 g
- Bleu de bromothymol	0.064 g
- Fuschine acide	0.1 g
- Agar	18 g
- Eau distillée	1 l
- pH= 7.4 ± 0.2	

#### Lecture :

- Colonies saumon à centre noir : *Proteus vulgaris*.
- Colonies bleus-vertes à centre noir : Salmonelles.

- Colonies bleus-verts ou vertes : Shigelles.

## 2/ Gélose lactose au bromocrésol pourpre (BCP) :

Toutes bactéries sans exigences particulières peuvent se développer sur ce milieu. On l'utilise pour la recherche d'*Escherichia coli*.

### Composition :

- Extrait de levure	5 g
- Peptone de caséine	15 g
- Lactose	10 g
- BCP 1 %	0.025 g
- Bile salf	3 g
- Agar	18 g
- Eau distillée	1 l
- pH= 7 ± 0.2	

### Lecture :

- Bactéries lactose positive : colonies jaunes.
- Bactéries lactose négative : colonies bleus-violacés.

## 3/ Gélose nutritive :

La gélose nutritive est un milieu qui convient à la culture des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières. On l'utilise pour l'isolement d'un germe afin d'assurer sa pureté.

### Composition :

- Peptone	15 g
- Extrait de viande	5 g
- NaCl	5 g
- Agar	15 g
- Eau distillée	1 l
- pH= 7	

## C/ Les milieux d'identification :

### 1/ Gélose de Glucose-Lactose-Saccharose-H<sub>2</sub>S (TSI) :

La gélose TSI est un milieu d'identification rapide pour les entérobactéries. Il permet de mettre en évidence la dégradation du glucose (avec ou sans dégagement de gaz), du lactose, du saccharose et la production d'H<sub>2</sub>S.

### Composition :

- Peptone de viande	15 g
- Proteose peptone	5 g
- Extrait de viande	3 g
- Extrait de levure	3 g

- Glucose	1 g
- Saccharose	10 g
- Lactose	10 g
- Citrate de fer ammoniacal	0.3 g
- NaCl	5 g
- Thiosulfate de sodium	0.3 g
- Rouge de phénol	0.05 g
- Agar	18 g
- Eau distillée	1 l
- pH= 7.4 ± 0.1	

Lecture :

- Culot jaune : culture glucose positive.
- Culot inchangé : culture glucose négative.
- Pente virant au jaune : culture lactose-saccharose positive.
- Pente rouge : culture lactose-saccharose négative.
- Noircissement du milieu : culture H<sub>2</sub>S positive.
- Bulle dans la masse du milieu : production du gaz.

**2/ Milieu Urée-Indole :**

Le milieu Urée-Indole permet de rechercher, l'uréase, la production d'indole et la tryptophane-désaminase.

Composition :

- L-tryptophane	3 g
- Phosphate dipotassique	1 g
- Phosphate monopotassique	1 g
- NaCl	5 g
- Urée	20 g
- Rouge de phénol	2.5 g
- Eau distillée	1 l
- pH= 6.7	

Lecture :

- Bactéries uréase positive : milieu devient alcalin et vire au rouge.
- La présence d'indole se manifeste après l'addition de 4 à 5 gouttes de réactif de Kovacs par l'apparition d'un anneau rouge à la partie supérieure du milieu.
- Le milieu est additionné de quelques gouttes de perchlorure de fer officinel :
  - Coloration brun rouge : TDA +.
  - Coloration jaune orangé : TDA -.

**3 / Eau peptonnée exempte d'indole :**

Composition :

- Peptone de viande	10 g
- Tryptone	10 g
- NaCl	5 g
- Eau distillée	1 l
- pH= 7.2	



Lecture :

La présence d'indole se manifeste après l'addition de 4 à 5 gouttes de réactif de Kovacs par l'apparition d'un anneau rouge à la partie supérieure du milieu.

**4/ CLARK et LUBS**

Ce milieu sert à l'étude de deux réactions :

- réaction au rouge de méthyl (RM)
- réaction de Voges Proskauer (VP)

Composition :

- Tryptone	2 g
- Peptone bactériologique	5 g
- Phosphate dipotassique	5 g
- Glucose	5 g
- Eau distillée	1 l
- pH= 7	

Lecture :

- réaction au rouge de méthyl : après incubation, on rajoute dans le milieu quelques gouttes de réactif rouge de méthyl.
- une teinte rouge : réaction positive (RM+).
- une teinte jaune : réaction négative (RM-).
- réaction de Voges Proskauer : après incubation, le milieu est additionné de quelques gouttes de réactifs de Voges Proskauer (VP 1 et VP 2).
  
- absence d'anneau brun : réaction négative (VP-)
- apparition d'un anneau brun : réaction positive (VP+).

**5/ Mannitol mobilité :**

Composition:

- Peptone	15 g
- Extrait de viande	3 g
- Mannitol	10 g
- Nitrate de potassium	1 g
- Rouge de phénol	0.05 g
- Agar	5 g
- Eau distillée	1 l
- pH= 7.8	

Lecture :

- le mannitol est fermenté : le milieu vire au jaune/
- le mannitol n'est pas fermenté : le milieu garde sa couleur initial.
- Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble du milieu.
- Les bactéries immobiles se développent uniquement le long de la strie d'ensemencement.

#### 6/ Milieu Moeller Falcow : pour les acides aminés :

##### Composition :

- Extrait de levure 3 g
- Glucose 1 g
- Acide aminé (ADH, LDC, ODC) 10 g
- Pourpre de bromocrésol 2 ml
- Eau distillée 1 l
- pH= 6.8 ± 0.1

##### Lecture :

Les bactéries fermentent le glucose, dans un premier temps, les milieux s'acidifient (virage du violet au jaune de l'indicateur de PH qui est le bromocrésol pourpre) . Dans un second temps, si les bactéries possèdent les enzymes ils alcalinisent le milieu et font virer l'indicateur de PH au violet.

- virage acide (jaune) : résultat négatif.
- virage alcalin (violet) : résultat positif.

#### 7/ Citrate de Simmons :

##### Composition :

- Ammonium dihydrogenophosphate 1 g
- Phosphate dipotassique 1 g
- NaCl 5 g
- Citrate de Na 2 g
- Sulfate de Mg 0.2 g
- Bleu de bromothymol 0.08 g
- Agar 18 g
- Eau distillée 1 l
- pH= 6.6 ± 0.1

##### Lecture :

- les bactéries citrates positives bleuissent le milieu en donnant une culture abondante en surface.
- Les bactéries citrates négatives ne donnent ni culture, ni virage du milieu.

#### D/ Milieu pour antibiogramme :

##### Milieu de Mueller-Hinton :

- Extrait de viande 3 g
- Hydrolysate acide de caseine 17.5 g
- Amidon 1.5 g
- Agar 16 g
- Eau distillée 1 l
- pH= 7.3

## Solutions pour la biologie moléculaire

### Solution I :

- 50 mM glucose
- 25 mM Tris HCl pH= 8.0
- 10 mM EDTA pH= 8.0
- Stériliser par autoclavage
- Lysozyme :10 mg dans 1ml, à conserver à 20<sup>a</sup> C en aliquote.

### Solution II:

- NaOH 0.2 M
- 1 % SDS

Conservation 8 semaines au maximum

### Solution III:

- |                            |         |
|----------------------------|---------|
| - 5 M acétate de potassium | 60 ml   |
| - Acide acétique glacial   | 11.5 ml |
| - Eau distillée            | 28.5 ml |

Solution à préparer extemporainement : la quantité sera en fonction du nombre d'échantillon.

### Bleu de bromophénol (BPB) :

- 12 g de sucrose
- 0.20 g de BPB
- 20 ml de TE Buffer

### TBE 10 x concentré :

- 108 g de Tris base
- 55 g d'acide borique
- 40 ml de 0.5 M EDTA à pH= 8
- Ajuster a 1 litre d'eau distillée

Pour le TBE 1 x, diluer au 1/10.

### TE+Rnase A :

- TE PH= 7.4
  - 10 mM Tris HCl (pH= 7.4)
  - 1 mM EDTA (PH= 7.4)
- 20 µg/ml de Rnase A.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- 1- Allan BJ, van den Hurk JV, Potter AA -1993-  
 “Characterization of Escherichia coli isolated from cases of avian colibacillosis”.  
 Can J Vet Res Jul. 57 , 146-151.
- 2- Al-Ghamdi 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.
- 3- Amara A, Ziani Z, Bouzoubaa K -1995-  
 “Antibioresistance of Escherichia coli strains isolated in Morocco from chickens with  
 colibacillosis”.  
 Vet Microbiol . 43 , 325-330.
- 4- Barbour EK, Nabbut NH, Al-Nakhli HM -1985-  
 “Use of epidemiologic markers to identify the source of Escherichia coli infections in  
 poultry”.  
 Am J Vet Res. 46 , 989-991.
- 5 -Bazile-Pham-Khac S, QC Truong, JP Lafont, L Gutmann, XY Zhou, M Osman and  
 NJ Moreau -1996-  
 “Resistance to fluoroquinolones in Escherichia coli isolated from poultry”.  
 Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 40 , N° 6, 1504-1507.
- 6 - Behora LC, Oundo JO, Yamamoto H -1994-  
 “Resistance of E. coli strains, recovered from chickens to antibiotics with particular reference  
 to trimethoprim-sulfamethoxazole (septrin)”.  
 East Afr Med J. 71 , 624-7.
- 7 - Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J -1997-  
 “Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian  
 Escherichia coli strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain”.  
 J Clin Microbiol. 35 , 2184-5.
- 8 -Bower, C. K., and M. A. Daeschel. -1999-  
 “Resistance responses of microorganisms in food environments”.  
 Int. J. Food Microbiol. 50 , 33-44
- 9- Cambau. E -1996-  
 « Antibiotiques : données générales sur les mécanismes de résistance »  
 Rev. Du prat. 46 , 2343-2350
- 10-Chalus-Dancla. E, Lafont et Guillot. J. F et al -1980-  
 « Inc groups among plasmids harbored by E. coli of avian origin ».  
 An. de micribiol. 131 B , 203-206.
- 11- Chalus-Dancla.E -1998-  
 « Les antibiotiques en élevage : état des lieux et problèmes posés ».  
 Unité de Pathologie Aviaire et Parasitologie. Equipe « Résistance aux antibiotiques ».

12- Chalus-Dancla.E -2001-

“Mechanisms of resistance to antibiotics in animal and zoonotic pathogens”.  
Veterinary Research. 32 N° 3-4.

13-Comité scientifique de l'Union Européenne -2002-

« Commission proposes new safety rules for feed additives and to prohibit antibiotics as growth promoters “  
Bruxelles IP/02/466.

14- David G. White, Laura J. V. Piddock, John J. Maurer, Shaohua Zhao, Vito Ricci, and Stephan G. Thayer -2000-

“Characterization of Fluoroquinolone Resistance among Veterinary Isolates of Avian *Escherichia coli*”.  
Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 44 , N° 10, 2897-2899.

15- Delhalle.E -1977-

“La classification des plasmides basée sur l'incompatibilité”  
J. of microbiol . 128 , 451-457.

16- Denteil. H -1996-

« Interprétation de l'antibiogramme »  
Inst. De bactériologie – Labo de Méd – Hôpitaux universitaires de Strasbourg

17- Dho-Moulin M, Fairbrother JM -1999-

« Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) ».  
Vet Res. 30 , 299-316.

18-Emery, D. A., K. V. Nagaraja, D. P. Shaw, J. A. Newman, and D. G. White. 1992.  
Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemia in chickens and turkeys.  
Avian Dis. 36 , 504-511.

19- Filali E, Bell JG, el Houadfi M, Huggins MB, Cook JK -1988-

“Antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticaemia in Morocco”.  
Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 11

20- Ghislaine Roch -1999-

« Des poulets nourris sans antibiotiques »  
Bulletin des agriculteurs, N° 11/99

21- GORSE P. ET JANET C. - 1983

« Les anti-infectieux dans l'élevage »  
Rec. Méd. Vét. 159 , 533-541.

22- Giurov B -1985-

“Sensitivity to drugs of *Escherichia coli* strains isolated from poultry with coli septicemia”.  
Vet Med Nauki . 22 , 16-24.

- 23- Giurov B, Korudzhiiski N, Bineva I -1981-**  
 “Drug resistance of *Escherichia coli* strains isolated from poultry”.  
 Vet Med Nauki. 18 , 12-8.
- 24 Ifigenia Geornaras, John W. Hastings, and Alexander von Holy –2001-**  
 “Genotypic Analysis of *Escherichia coli* Strains from Poultry Carcasses and Their Susceptibilities to Antimicrobial Agents”  
 Applied and Environmental Microbiology. 67 , N° 4 , 1940-1944.
- 25- Joly. B et Cluzel. R -1978-**  
 « Méthodes d’incompatibilité »  
 Ann. de microbiol. 129 , N° 4.
- 26- Kauffman. F -1973-**  
 « on the realistic classification and evaluation of serology ».  
 Acta. Path. Microbiol. Scand. 81B , 198-202.
- 27-Lambie N, Ngeleka M, Brown G, Ryan J. –2000-**  
 “Retrospective study on *Escherichia coli* infection in broilers subjected to postmortem examination and antibiotic resistance of isolates in Trinidad”.  
 Avian Dis. 44 , 155-60.
- 28- Le Minor. L et Veron. M –1989-**  
 « Bactériologie médicale »  
 Ed. Méd. Scien. Flam ; 2 ème édition
- 29-« L'utilisation des antibiotiques dans l'agriculture est réduite de 50 pour cent »**  
 COMMUNIQUE DE PRESSE / Berne, le 20.9.2001.
- 30- Lydia Bass, Cynthia A. Liebert, Margie D. Lee, Anne O. Summers, David G. White, Stephan G. Thayer, and John J. Maurer -1999-**  
 “Incidence and Characterization of Integrons, Genetic Elements Mediating Multiple-Drug Resistance, in Avian *Escherichia coli*”.  
 Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 43 , N° 12 , 2925-2929
- 31- Maggi Mikaelsson -1999-**  
 « Interdiction des antibiotiques dans la production alimentaire »  
 Rapport de la Commission de l’agriculture et du développement rural, Suède.
- 32- Manie T, Khan S, Brozel VS, Veith WJ, Gouws PA -1998-**  
 “Antimicrobial resistance of bacteria isolated from slaughtered and retail chickens in South Africa”.  
 Lett Appl Microbiol. 26 , 253-8.
- 33-Medders, W. M., R. E. Wooley, P. S. Gibbs, E. B. Shotts, and J. Brown. -1998-**  
 “Mutation rate of avian intestinal coliform bacteria when pressured with fluoroquinolones”.  
 Avian Dis. 42 , 146-153
- 34-Melzi. A –2001-**  
 “Milieux de cultures et réactifs de laboratoire”.  
 Institut Pasteur d’Algérie, 1<sup>ère</sup> édition.

**35-Ministry of Agriculture and Forestry, Department of Food and Health –1999-**  
“Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents in Finland”  
Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance (FiRe)

**36-Mouffi. L et Karaoui. A –2001-**  
« Evaluation de la résistance aux antibiotiques chez 54 souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire ».  
Mémoire de DES, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene.

**37- M.Georges BORIES. Pierre LOUISOT -1998-**  
« Rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale »

**38-Nadeau, M., H. Bergeron, G. Côté, G. Arseneault, and R. Higgins –1999-**  
« Programme québécois de surveillance de la résistance aux agents antimicrobiens des bactéries d'origine animale et alimentaire. Proceedings Agriculture's role in managing antimicrobial resistance “Conference. Toronto

**39- Nazer AH -1980-**  
“Transmissible drug resistance in *Escherichia coli* isolated from poultry and their carcasses in Iran”.  
Cornell Vet. 70 , 365-71.

**40-Ørskov, F., and I. Ørskov. -1984-**  
“Serotyping of *Escherichia coli*”.  
Methods Microbiol. 14 , 43-112.

**41- NCCLS –1999-**  
« Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ; ninth informational supplement ».  
M 100 – S 9, vol. 19, N° 1.

**42- Richard. Y –1986-**  
« Résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire »  
Rev. de Sci. Vét et méd. Comp. 88 , N° 5-6

**43- Sackey BA, Mensah P, Collison E, Sakyi-Dawson E -2001-**  
“Campylobacter, Salmonella, Shigella and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan accra”.  
Int J Food Microbiol. 71 , 21-8.

**44- SOU -1997-**  
“Antimicrobial Feed Additives. Report from the Commission on Antimicrobial Feed Additives”.  
Rapport, 132. Stockholm



- 45 S. Kariuki, C. Gilks, J. Kimari, A. Obanda, J. Muyodi, P. Waiyaki, and C. A. Hart  
“Genotype Analysis of *Escherichia coli* Strains Isolated from Children and Chickens Living in Close Contact”.  
Applied and Environmental Microbiology. 65 , N° 2 , 472-476
- 46- Villote.D –1997-  
« Maladies des volailles »  
Ed. France agricole
- 47- WHO, ELECTRONIC DISCUSSION GROUP –1999-  
“Ten years without antibiotic growth promoters. Results from Sweden with special reference to production results alternative disease preventive methods and usage of antimicrobial drugs”  
M.Wierup, Swedish Animal Health Service.
- 48- Wooley RE, Spears KR, Brown J, Nolan LK, Dekich MA -1992-  
“Characteristics of conjugative R-plasmids from pathogenic avian *Escherichia coli*”.  
Avian Dis. 36 , 348-52.
- 49-Wray C, McLaren IM, Carroll PJ -1993-  
“*Escherichia coli* isolated from farm animals in England and Wales between 1986 and 1991”.  
Vet Rec. 133 , 439-42.
- 50- Wierup M –2001-  
“The Swedish experience of the 1986 year ban of antimicrobial growth promoters, with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials”.  
Microb Drug Resist. 7 , 183-90.

## **RESUME :**

L'antibiorésistance connaît une augmentation constante du fait de l'utilisation en masse d'antibiotiques chez l'homme et chez l'animal. Nous avons étudié les résistances aux différents antibiotiques par la méthode de diffusion sur gélose et la détermination de la concentration minimale inhibitrice, chez les entérobactéries isolées de la volaille dans l'ouest Algérien. Grâce à la technique de compatibilité nous avons pu grouper les plasmides (Com 1 et F1). L'électrophorèse sur gel d'agarose nous a permis de visualiser les plasmides, supports de ces résistances.

La recherche de la colicine comme marqueur épidémiologique, et l'étude antigénique des souches (surtout les sérotypes O1K1, O2K1 et O78K80 ) responsables de graves affections.

## **MOTS CLES :**

Antibiorésistance – Ouest Algérien – Volaille - Entérobactéries – Plasmides – Groupes Inc – Electrophorèse – Sérotypes.