

CHIMIOTYPES ET ANTIBIOTYPES DES COLIBACILLES D'UNE FERME D'ELEVAGE DE TLEMCCEN

M. DRISSI¹ & A. CHIKHI²

1. Laboratoire de microbiologie ISN ; Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemccen.
2. Laboratoire de microbiologie ISN ; USTHB de Bab Ezzouar, Alger.

Résumé : Au total 520 souches de colibacilles ont été isolées et identifiées, après un suivi de 45 jours environ à partir des décès de six veaux nouveau-nés d'une ferme située à Saf-Saf dans la wilaya de Tlemccen. L'étude dynamique de cette microflore a montré que l'installation des coliformes se faisait aux environs de la 20^{ème} heure avec une prédominance précoce d'*Escherichia coli*. L'analyse des chimiotypes a révélé qu'il s'agissait d'une microflore hétérogène les premières heures avec une tendance à la stabilisation vers la fin de la première semaine. Une hétérogénéité a été également observée pour les antibiotypes établis avec 8 antibiotiques et les sulfamides.

Mots clés : *Escherichia coli*, flore fécale, veau nouveau-né, colonisation bactérienne, antibiorésistance.

Summary : A total of 520 *Escherichia coli* strains were isolated after a 45 days' observation of their evolution from the faeces of six newborn calves in a farm situated in the Saf-Saf region in the wilaya of Tlemccen. The dynamic study of this microflora shows that the settlement of the coliforms was made at about the twentieth hour with an early predominance of *Escherichia coli*. The analysis of chemotypes revealed that in fact, it was a heterogenous microflora during the first hours with a tendency towards stabilisation in the end of the first week. A heterogenous trend was also observed in the antibiotypes established with eight antibiotics and the sulfamids.

Key words : *Escherichia coli*, fecal flora, newborn calves, bacterian colonization, antibiotic resistance.

INTRODUCTION

Nous avons eu l'occasion de suivre pendant plus de six mois l'évolution de la microflore fécale de six veaux nouveau-nés dans une ferme d'élevage de la wilaya de Tlemcen. Les prélèvements ont été réalisés avec le souci de suivre l'installation et l'évolution des coliformes jusqu'au 45^{ème} jour. Puis toutes les souches isolées, au total 520, ont été testées avec 9 antibiotiques.

MATERIELS ET METHODES

1 - Prélèvement :

Les prélèvements de matières fécales ont été effectués chez six veaux nouveau-nés appartenant à une ferme d'état «Hammadouche» située à Saf-Saf à 10 kilomètres environ à l'est de Tlemcen. Chacun des veaux a fait l'objet de plusieurs prélèvements (en moyenne 10) dès les premières heures qui ont suivi la naissance jusqu'au 45^{ème} jour.

2 - Dénombrement :

Après avoir effectué des dilutions successives (jusqu'à 10^{-7}) d'1g de fécès dans du liquide de Ringer, 0,1ml de chacune des trois dernières dilutions est ensemencée en parallèle dans deux boîtes contenant de la gélose Drigalski. Le dénombrement concernera les colonies lactose positives.

3 - Identification bactérienne :

Après dissémination sur milieu Drigalski, 10 colonies lactose positives (colonies jaunes) prélevées au hasard sont réisolées et purifiées sur gélose de Mac Konkey (milieu sélectif pour enté-

robactéries) puis identifiées sur galeries APT 20 E.

4 - Antibiogramme :

L'antibiogramme a été réalisé à l'aide de la méthode des disques sur gélose Mueller Hinton (CHABBERT, 1973). A partir d'une culture de 18 heures dans un bouillon cœur-cerveau, 2 gouttes sont prélevées et diluées dans 10 ml d'eau physiologique. L'ensemencement est effectué en déversant la dilution sur la surface de la gélose. après élimination de l'excès de liquide et séchage de la gélose, les disques sont déposés. La lecture est faite après 24 heures d'incubation à 37°C.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1 - Evolution des chimiotypes :

La colonisation du tube digestif par les coliformes chez le veau nouveau-né semble varier d'un animal à un autre sans que nous puissions préciser le moment où elle a lieu (tableau n°I). L'absence des coliformes peut être constatée jusqu'à la 14^{ème} heure, puis une invasion massive et rapide est observée dans les prélèvements qui suivent, c'est à dire à partir de la 19^{ème} heure (cas du veau V1). Dès le 3^{ème} jour, le nombre de ces germes décroît progressivement pour tendre vers un équilibre variable suivant l'état physiologique de l'animal (CONTREPOIS et al., 1977 ; MARTEL et al., 1981). Les causes de ces fluctuations sont multiples, la particularité de chaque individu, le moment de l'allaitement, la puissance du transit intestinal et, par conséquent, le moment du prélèvement.

Tableau I : Numération bactérienne en fonction de l'âge.

| Age | 4H | 12H | 13H | 14H | 19H | 2éJ. | 3éJ. | 4éJ. | 5éJ. | 6éJ. | 7éJ. | 8éJ. | 9éJ. | 10éJ. | 11éJ. | 12éJ. | 15éJ. | 16éJ. | 19éJ. | 20éJ. | 21éJ. | 28éJ. | 29éJ. | 30éJ. | 43éJ. | 45éJ. | 45éJ. | | | | |
|-------|----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|--|--|--|
| Veaux | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V1 | | 0 | | 800 | 2700 | 1740 | 380 | 200 | 74 | | | | | | 28 | 20 | 41 | | | | 58 | | | | | | 20 | 20 | | | |
| V2 | 0 | | | | 1070 | | 252 | 370 | | | | | 119 | 52 | 120 | | | | | | | MORT | | | | | | | | | |
| V3 | | | 0 | | 800 | | 264 | 48 | 360 | | | | 523 | 32 | | | | 960 | | | | MORT | | | | | | | | | |
| V4 | | 0 | | | 3248 | | | 31 | 40 | | | | | 230 | | | 22 | | | 6 | | | | | | 2 | 2 | | | | |
| V5 | 0 | | | | 130 | | 130 | 200 | | | | | | | | | 40 | | 106 | | | | | | 310 | | 50 | 50 | | | |
| V6 | | | 0 | | 530 | | 26 | 24 | 500 | | | | | | 30 | | | 39 | | | | | | | 36 | 5 | | | | | |

N.B. : Les chiffres sont exprimés en millions par gramme de fécés. (x 10⁶/g)

Pour pouvoir faire une étude comparative avec les travaux effectués dans ce domaine, le codage API des types biochimiques a été utilisé (BUISSIERE et al., 1968 ; CHIKHI, 1978). Ainsi les 20 caractères biochimiques d'identification nous ont permis de distinguer 19 chimiotypes au lieu de 12 chez l'humain (TERKI HASSAINE, 1991) pour un nombre de souches sensiblement équivalent (tableau n°II).

Pour un nombre de souches deux fois plus élevé, CHIKHI, en 1978, a identifié selon le même principe 39 biotypes. Ainsi en comparant nos

résultats avec ceux obtenus à partir d'analyses effectuées sur des nourrissons (BORDERON et al., 1974 ; TERCK et al., 1984 ; TURKI HASSAINE 1991), la différence n'est pas surprenante, en particulier la diversité en biotype plus importante chez le nouveau-né bovin par rapport à l'humain, puisque la composition et le niveau d'une microflore digestive dépende de l'hôte étudié et de ses conditions de vie, en particulier de son état physiologique et son environnement (CONTREPOIS et GOUET, 1977).

Tableau II : Corrélation entre les différents types de colibacilles et les caractères biochimiques.

| Car. Bioch Types bioch | N | % | ONPG* | ADH* | LDC* | ODC* | IND* | GLU* | MAN* | INO* | SOR* | RHA* | SAC* | MEL* | AMY* | ARA* |
|---------------------------|-----|-------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 5144572 | 193 | 37,11 | + | - | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | - | + |
| 5144552 | 103 | 19,80 | + | - | + | + | + | + | + | - | + | + | - | + | - | + |
| 5044552 | 67 | 12,90 | + | - | + | - | + | + | + | - | + | + | - | + | - | + |
| 5044572 | 51 | 9,80 | + | - | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | - | + |
| 1144552 | 23 | 4,42 | + | - | - | + | + | + | + | - | + | + | - | + | - | + |
| 1144572 | 19 | 3,65 | + | - | - | + | + | + | + | - | + | + | + | + | - | + |
| 5144542 | 16 | 3,07 | + | - | + | + | + | + | + | - | + | - | - | + | - | + |
| 5144562 | 15 | 2,88 | + | - | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + | - | + |
| 1044552 | 7 | 1,34 | + | - | - | - | + | + | + | - | + | + | - | + | - | + |
| 7044552 | 6 | 1,15 | + | + | + | - | + | + | + | - | + | + | - | + | - | + |
| 5044542 | 4 | 0,77 | + | - | + | - | + | + | + | - | + | - | - | + | - | + |
| 5144772 | 3 | 0,57 | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + |
| 1144512 | 3 | 0,57 | + | - | - | + | + | + | + | - | + | + | - | - | - | + |
| 1144542 | 3 | 0,57 | + | - | - | + | + | + | + | - | + | - | - | + | - | + |
| 5044152 | 2 | 0,38 | + | - | + | - | + | + | + | - | - | + | - | + | - | + |
| 5144172 | 2 | 0,38 | + | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | + |
| 5104552 | 2 | 0,38 | + | - | + | + | - | + | + | - | + | + | - | + | - | + |
| 5104572 | 1 | 0,19 | + | - | + | + | - | + | + | - | + | + | + | + | - | + |
| 5044562 | 1 | 0,19 | + | - | + | - | + | + | + | - | + | - | + | + | - | + |

Cit (-), H25 (-), URE (-), VP (-), GEL (-), TDA (-)

*ONPG : recherche de la bêta-galactosidase, ADH : arginine dihydrolase,

LDC : lysine décarboxylase, ODC : ornithine décarboxylase, IND : indole,

CIT : utilisation d'une seule source de carbone - le citrate, H23 : formation d'H25,

URE : uréase, TDA : tryptophane désaminase, VP : acétoine, GEL : gélatinase,

GLU : glucose, MAN : mannitol, INO : inositol,

SOR : sorbitol, RHA : rhamnose, SAC : saccharose, ARA : arabinose, MEL : mélibiose

2 - Evolution des antibiotypes :

L'analyse des antibiogrammes révèle que la diversité ne touche pas seulement les chimiotypes mais aussi les antibiotypes en effet, il en ressort tout de suite une nette prédominance des souches résistantes (460) par rapport aux souches sensibles (60) soit 88,46% contre 11,54% (tableau n°III et IV).

Pour une étude d'environnement, les antibiotypes constituent un facteur aussi important que l'aspect biochimique des souches. Pour cela, nous les avons classé en 9 catégories suivant le spectre de résistance.

Il est important de remarquer que les antibiotypes A (au nombre de 20), T(86), AT(63), AKNT(28), ASCTSu

(20), ASKNCTSu(49), c'est à dire un nombre total de 266, forment à eux seuls 51% de l'ensemble des souches. Il faut signaler cependant que les veaux qui ont présenté quelques épisodes de diarrhée (veaux V2 et V3), les souches multirésistantes apparaissent, dès les premières heures de la colonisation et persistent en proportion importante. Ces résultats expérimentaux confirment la précocité d'implantation d'*Escherichia coli* sensibles et résistants ainsi que la fréquence et la variété des souches multirésistantes rencontrées préférentiellement dans les élevages ou conduites d'élevage et hygiène laissaient à désirer (GUILLOT et al., 1983 ; HINTON, 1986 ; MOHAMED OUSSAID et al., 1994.

Tableau III : Comportement des colibacilles vis à vis de chaque antibiotique

| Antibiotiques | Concentration En ug/ml g < I > R | | Int. | Res. |
|-----------------|--|-----|--------------|--------------|
| Ampicilline | 4 | 16 | 129 24,8% | 168 32,3% |
| Streptomycine | 8 | 12 | 85 16,3% | 94 18,1% |
| Kanamycine | 8 | 32 | 19 3,7% | 144 27,7% |
| Néomycine | 8 | 32 | 64 12,3% | 89 17,1% |
| Gentamycine | 4 | 16 | 0 | 0 |
| Chloramphénicol | 8 | 32 | 43 8,26% | 109 21% |
| Tétracycline | 4 | 16 | 114 21,9% | 265 50,9% |
| Colistine | 2 | 2 | 0 | 30 5,76% |
| Sulfamides | 100 | 350 | 0 | 149 28,6% |

Int. : résistance intermédiaire

Rés. : résistance

Tableau IV : Répartition de l'antibiorésistance

| Résistance à | Nombre de colibacilles Résistants (N) | % N/520 |
|------------------|---|------------|
| 0 (sensibles) | 60 | 11,53 |
| 1 | 118 | 22,70 |
| 2 | 100 | 19,23 |
| 3 | 42 | 8,07 |
| 4 | 50 | 9,61 |
| 5 | 44 | 8,46 |
| 6 | 33 | 6,34 |
| 7 | 58 | 11,15 |
| 8 | 15 | 2,88 |

CONCLUSION

Ce travail souligne l'intérêt de la chimiotypie en matière de recherche épidémiologique. Il confirme l'importance primordiale des colibacilles qui a été également constaté dans d'autres formes chez le même animal et chez le nourrisson en milieu hospitalier (TERKI HASSAINE, 1991 ; POHL et al., 1992).

Toutes les données rassemblées ont permis de constater qu'il existe une dominance biochimique lors d'une diarrhée sans que celle-ci ne soit spécifique d'un sujet ou d'un état.

Ainsi il existe une dynamique évoluant dans le temps en fonction de l'état de l'animal, de son âge et de son environnement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

BORDERON J.C. ; BORDERON E. ; CHABBERT Y.A. 1971. Etude quantitative de la colonisation par les entérobactéries multirésistantes des enfants prématurés. Ann. Microbiol. Inst. Pasteur, 125B, 45-47.

BUISSIERE J. et NARDON P., 1968. Ann. Inst. Pasteur, 115, 218.

CHABBERT Y.A. 1973. Données actuelles sur la résistance des bactéries aux antibiotiques. Extrait des actualités pharmacologiques, 26, 27 et 60.

CHIKHI A., 1978. Recherche des coliformes d'une ferme d'élevage de Normandie. Thèse de doctorat-es-sciences. Université de Caen.

CONTREPOIS M. ; GOUET Ph. 1977. La flore normale et pathogène du veau de moins de 15 jours. L'aliment et la vie, 65,60-75.

GUILLOT J.F. ; LAFONT J.P. 1983. Antibiorésistance des *E.coli* du veau. Rec. Med. Vet., 159(3), 313-321.

HINTON M. 1986. The ecology of *E.coli* in Animals including man with particular reference to drug resistance. Vet. Rec., 1986, 420-426.

MARTEL. J.I. ; CONTREPOIS M. ; DUBOURGUIER H.C. ; GIRARDEAU J.P. ; GOUET Ph. ; BORDAS C. ; HAYERS F. ; RAMISSE J. ; SENDRAL R.. 1981. Fréquence de l'antigène K99 et antibiorésistance chez *E.coli* d'origine bovine en France. Ann. Rech. Vet., 12, 253-257.

MOHAMED OUSSAID A., CONTREPOIS M. ; DER VARTANIAN M. ; GIRARDEAU J.P. Facteurs et marqueurs de virulence de souches *E.coli* isolées de diarrhées chez des veaux âgés de 4 à 45 jours en Algérie. Revue Elev. Med. Vet. Pays trop., 1994, 49(2) : 169-175.

POHL P., DAUBE G., MAINIL J., LINTERMANS P., KAECKENBEECK A., OSWALD E. Facteurs de virulence et phénotype de soixante et une souches d'*Escherichia coli* d'origine bovine productrices de la cytotoxine nécrosante de type 1 (CNF1). Ann. Rech. Vet., 1992, 23 :83-91.

TERKI, HASSAINE H. 1991. Etude des coliformes dans la microflore fécale du nouveau-né humain au niveau du C.H.U de Tlemcen. Thèse de Magister, Université de Tlemcen.

TURCK D., YTHIER H., MAQUET E., NEU C. 1984. La flore digestive. Description et facteurs de régulation. La médecine infantile n°1, 53-59.