

FREQUENCE D'ISOLEMENT ET ANTIBIORESISTANCE DES SOUCHES D'*ESCHERICHIA COLI* F5+ ISOLEES CHEZ LES VEAUX DE LA MITIDJA (ALGERIE).

Akam A.¹, A. Bouyoucef², Kh. Rahal³, M. Lafri², R. Kaidi², D. Khelef⁴, F. Chirilă⁵.

¹ Centre universitaire de Djelfa, Algérie, a_akam@hotmail.com

² Département des sciences vétérinaire, université de Blida, Algérie

³ Service de Bactériologie Médicale et d'Hygiène Hospitalière, Institut Pasteur d'Algérie.

⁴ Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, Algérie.

⁵ Département de Microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Cluj-Napoca, Roumanie.

Key words: *Escherichia coli*, F5+, calves, antibioresistance, Mitidja, Algeria.

Abstract. During november 2000 to december 2003, 365 calves faeces were collected in eight breeding farms from the Mitidja (Algeria) in order to evaluate faecal shedding of F5+ *E. coli* and their resistance to antimicrobial agents. The presence of F5+ *E. coli* has been recorded only in five farms where the percentages varied between 1.92% to 9.09%. The prevalence of F5+ strains in diarrhoeic and non-diarrhoeic calves is situated at 5% and 2.4% respectively. The highest infection rate is situated in calves of 1-7 days old (6,9%). The studies of antibiotic resistance showed a resistance of F5+ *E. coli* to tetracycline, ticarcilline, ampicilline. However, no resistance has been noted in F5+ strains to colistin, enrofloxacin, ofloxacin, nalidixic acid and gentamicin.

INTRODUCTION

La colibacillose est une infection bactérienne fréquemment rencontrée chez le veau nouveau-né. De par son importance dans l'étiologie des diarrhées néonatales, elle est à l'origine d'importantes causes de morbidité et de mortalité des jeunes veaux dans tous les types d'élevage bovins laitiers [18]. Chez les bovins, de nombreux adhésines sont décrites et parmi lesquelles, nous citons les plus couramment isolées, le facteur F5+ (ou K99) [20] et le F41 [13]. L'isolement du facteur d'attachement F5+ chez les souches d'*E. coli* d'origine bovine a déjà fait l'objet de nombreuses études dans divers pays, notamment au Canada [12], en France [9, 10, 7, 4, 16, 19, 5], en Belgique [17, 18], en Roumanie [3], au Maroc [6] et en Tunisie [22, 21]. En Algérie, deux études ont été consacrées pour la recherche des facteurs d'attachement chez les souches d'*E. coli* [11, 2] et ce n'est que dans la dernière que la présence du colibacille F5+ fut signalée pour la première fois par la méthode classique dans les élevages laitiers en Algérie. Le but de ce travail est d'estimer l'incidence de la bactérie dans huit grandes fermes laitières de la Mitidja et de suivre l'évolution du profil de l'antibiorésistance des souches F5+ isolées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Prélèvements: Dans la période de novembre 2000 à décembre 2003, 8 fermes laitières situées dans la localité de la Mitidja (Algérie), ont fait l'objet d'une étude portant sur la recherche des souches d'*E. coli* F5+ chez les veaux. Les élevages renferment entre 6 et 100 veaux de race Prim'Holstein et sont issus de mères non vaccinées contre le colibacille F5+.

Dans cette enquête, 580 échantillons de fèces sont collectés à partir de 365 veaux (soit 240 diarrhéiques et 125 non diarrhéiques) à raison de 1 à 3 prélèvement(s) par individu. Les animaux ciblés sont âgés entre 1 jour et 2,5 mois et dans la majorité des cas dépassant deux semaines. Les prélèvements sont réalisés par écouvillonnage rectal. L'écouvillon est introduit dans un tube à essai contenant de l'eau physiologique stérile, puis ce dernier est remis dans une glacière isotherme (4-8° C) et acheminé le jour même au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Institut Pasteur.

2. Analyses bactériologiques: Les prélèvements sont remis en suspension dans de l'eau physiologique stérile, puis ensemencés sur gélose lactosée au pourpre de bromocrésol, incubées 18 heures à 35° C. Trois à cinq colonies lactose+ sont sélectionnées et identifiées à l'aide d'une galerie classique ou api-20E (BioMérieux, Réf. 20 100). Un repiquage des souches est pratiqué dans des tubes contenant du milieu Minca IsoVitalex incliné, pendant 24 heures à 37° C. La recherche des souches d'*E. coli* F5+ se fait par agglutination de colonies isolées sur Minca avec un sérum spécifique Anti-F5+ (eurobio, réf. 900 26). Un antibiogramme est systématiquement réalisé pour chaque colibacille F5+, selon la technique recommandée par NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) [14] pour les bactéries non exigeantes: milieu de Mueller-Hinton, inoculum 0,5 Mc Farland, ensemencement par écouvillonnage, incubation 18 heures à 35°C. Onze antibiotiques sont testés: ampicilline (AM: 10 µg), colistine (CS: 10 µg), acide nalidixique (NAL: 30 µg), amoxicilline + acide clavulanique (AMC: 20/10 µg), enrofloxacin (ENR: 5 µg), gentamicine (GN: 10 µg), sulfonamides (SSS: 300 µg), ofloxacin (OFX: 5 µg), tétracycline (TE: 30 µg), ticarcilline (TIC: 30 µg), chloramphénicol (CHL: 30 µg). Les disques d'antibiotiques proviennent de Biorad. Pour le chloramphénicol, la concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée selon la méthode de NCCLS [15] afin de situer le niveau de résistance de chaque colibacille F5+, ceci en raison des diamètres (jugés faibles) obtenus en antibiogramme d'une part, et d'autre part, du fait que cet antibiotique n'est pas autorisé en médecine vétérinaire en Algérie. La gamme d'antibiotique utilisée varie de 0,016 µg à 128 µg/ml, l'inoculum bactérien est de 0,5 Mc farland, dilué au 1/10^{ème} (M7A5). Un ensemencement est pratiqué respectivement pour chaque colibacille F5+ isolé et pour la souche d'*E. coli* de référence ATCC 25 922 par un appareil steers (Inoculator multipoint), l'incubation dure 18 heures à 35 °C (M100A11).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

De cette étude, il ressort que la présence de *E. coli* F5+ est observée dans cinq élevages avec des taux allant de 1,92% à 9,09%. Sur les 365 veaux examinés, 15 d'entre-eux se sont révélés porteurs des souches d'*E. coli* F5+, avec un taux de 4,10%. Il est à noter que 22 souches d'*E. coli* (soit 6,02%) se sont montrées auto-agglutinantes et elles sont considérées de ce fait comme n'exprimant pas ce facteur. L'étude montre une plus grande fréquence d'apparition du colibacille F5+ chez les veaux diarrhéiques en comparaison avec ceux n'ayant pas présenté ce symptôme, 5% contre 2,4% (12/240 vs 3/125) respectivement (Tableau 1).

La répartition des résultats des analyses des fèces en fonction des tranches d'âge des veaux, montre que le colibacille F5+ est plus fréquemment isolé chez les sujets âgés de 1 à 7 jours (6,0%) en comparaison avec les autres tranches d'âge. Cependant, nous relevons son absence chez les animaux dépassant 2 mois. Il est à indiquer que l'excrétion d'*E. coli* F5+ est observée chez 8 parmi 85 veaux diarrhéiques âgés entre 1 et 7 jours (9,4%), chez 3 parmi 33 sujets diarrhéiques âgés de 8 à 14 jour (9,0%) et enfin, chez 1 parmi 33 individus âgés de 15 à

21 jours (3,03%). Quant aux veaux non diarrhéiques, l'excrétion du colibacille F5+ est relevée chez un seul veau dans chaque tranche d'âge: 15-21 jours (4,3%), 22-30 jour (6,66%) et 1-2 mois (7,69%) (tableau 2).

Tableau 1

Fréquence d'isolement du colibacille F5+ chez les veaux dans les fermes

Fermes bovines	Nbre de sujets examinés			Résultats en nombre et en pourcentage					
	V.T.	V.D.	V.N.D.	V.T.		V.D.		V.N.D.	
				Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
I	26	16	10	2	(7,69)	2	(12,5)	-	-
II	153	104	49	7	(4,57)	6	(5,7)	1	-
III	18	8	10	-	-	-	-	-	-
IV	52	24	28	1	(1,92)	-	-	1	(3,57)
V	37	28	9	2	(5,40)	1	(3,5)	-	-
VI	33	27	6	3	(9,09)	3	(1,5)	1	(16,66)
VII	21	20	1	-	-	-	-	-	-
VIII	25	13	12	-	-	-	-	-	-
Total	365	240	125	15	(4,10)	12*	(5,0)	3	(2,4)

Légende: V.T.: Veaux totaux; V.D.: Veaux diarrhéiques, V.N.D.: Veaux non diarrhéiques;
Nbre: nombre de cas positif

Tableau 2

Distribution des résultats en fonction des tranches d'âge des veaux

Tranches d'âge		Résultats					
		1-7j	8-14j	15-21j	22-30j	1-2m	>2m
V. T.	NVP/NVE (%)	8/115 (6,9)	3/60 (5,0)	2/56 (3,57)	1/53 (1,8)	1/49 (2,04)	0/32 -
V. D.	NVP/NVE (%)	8/85 (9,4)	3/33 (9,0)	1/33 (3,03)	0/38 -	0/36 -	0/15 -
V. N.D.	NVP/NVE (%)	0/30 -	0/27 -	1/23 (4,3)	1/15 (6,66)	1/13 (7,69)	0/17 -

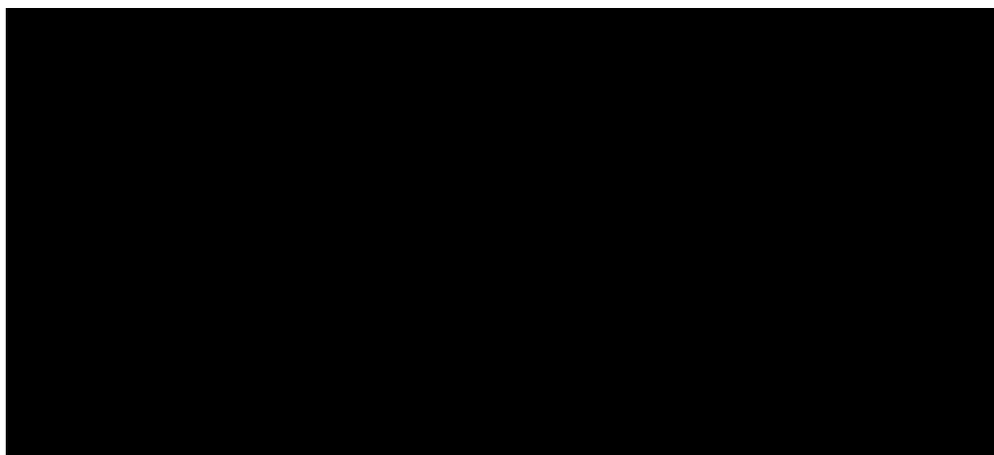
Légende: V.T.: veaux totaux, V.D.: veaux diarrhéiques, VND: veaux non diarrhéiques,
NVP.: nombre de veaux positif, NVE: nombre de veaux examinés, j: jour, m: mois

L'étude de l'antibiorésistance des *E. coli* F5+ montre une sensibilité de toutes les souches à la colistine, la gentamicine, l'enrofloxacin, l'ofloxacin, l'acide nalidixique. En revanche, une résistance est relevée pour l'ampicilline, la tétracycline et la ticarcilline. En outre, une souche F5+ s'est montrée résistante pour l'amoxicilline + acide clavunamique, quatre pour les sulfonamides et cinq pour le chloramphénicol. Par ailleurs, l'étude de la concentration minimale inhibitrice a montré une sensibilité d'une souche F5+ au chloramphénicol (figure 2).

Les résultats de cette étude confirment pour la deuxième fois la présence du colibacille F5+ par la méthode classique dans les fermes laitières en Algérie, rejoignant l'étude de Mohamed Ou Said et al. [11] et de Akam et al. [2]. Le faible taux de positivité obtenu dans notre étude, coïncide avec celui de Mohamed Ou Said [11]. Inversement, des taux plus élevés ont été relevés dans d'autres pays du Maghreb, notamment en Tunisie [22, 21] et au Maroc [6], 18,29%, 21% et 20,87% respectivement. Par contre, des pourcentages comparables au notre ont été enregistrés dans les études de Nicolas *et al.* [16] et très inférieurs par rapport à ceux de Martel *et al.* [10], Pivont *et al.* [17] et Contrepois *et al.* [5] qui obtiennent des taux variant entre 12 et 20%. Le faible taux enregistré dans la présente étude, est lié, à notre avis, d'une part, au nombre élevé d'individus sains examinés et chez lesquels l'incidence de la colibacillose F5+ est faiblement exprimée et d'autre part, à l'âge des

individus examinés dépassant 1 semaine d'âge, ce qui minimise à notre avis les chances de tomber sur des cas positifs.

Figure 2. Profil d'antibiorésistance des souches d'*E. coli* F5+



Légende: NAL: Acide nalidixique, AMP: Amoxicilline + acide clavunalique, AM: Ampicilline, COL: Colistine, CHL: Chloramphénicol, ENR: Enrofloxacine, GN: Gentamicine, SSS: Sulfonamides, OFX: Ofloxacine, TE: Tétracycline, TIC: Ticarcilline.

La répartition des isollements en fonction du statut clinique des veaux montre que nos résultats rejoignent ceux rapportés dans la littérature qui montrent que le colibacille F5+ est plus isolée chez les sujets diarrhéiques que non diarrhéiques. En effet, chez les premiers, selon les travaux, le taux varie de 2,5 à 26,9% [8, 18, 16, 5, 22, 21, 6], alors que chez les seconds, il se situe entre 0,3% et 8,2% [7, 17, 6].

La distribution des résultats montre que 8 parmi les 15 *E. coli* F5+ isolés appartiennent aux veaux âgés de moins de 4 jours, ce qui est en accord avec les résultats de nombreuses enquêtes épidémiologiques [1, 2, 11, 4, 6]. Cependant, la diminution de la fréquence de portage du colibacille chez les animaux de 8 à 14 jours, 15-21 jours et 22-30 jours et son absence chez ceux dépassant 2 mois, est liée, à notre avis, à la diminution de l'infection avec l'augmentation de l'âge, par le fait de l'immunité acquise des veaux, chose confirmée par nos résultats obtenus sur le terrain [2].

Les résultats de l'antibiorésistance des souches d'*E. coli* F5+ présentent de nombreux points communs avec ceux rapportés dans la bibliographie [19, 10, 22, 6, 3] montrant la grande sensibilité des souches F5+ à la colistine, la gentamicine et l'enrofloxacine et la résistance à l'ampicilline, la tétracycline et le chloramphénicol. Toutefois, dans notre étude, toutes les bactéries ont montré une sensibilité envers l'acide nalidixique, ce qui ne correspond pas à ce qui est indiqué dans les études de Ramisse *et al.* [19] et de Martel *et al.* [10] qui signalent l'existence d'une montée de la résistance des souches F5+ vis-à-vis de cet antibiotique. Pour notre part, cette sensibilité des souches F5+ à cet antibiotique, est imputée, à son non utilisation par les praticiens vétérinaires et de l'emploi le plus souvent d'autres antibiotiques (colistine, gentamicine et l'ampicilline).

CONCLUSION

Les résultats de la présente étude nous donne un aperçu sur l'incidence des infections à *E. coli* F5+ dans les élevages et qui en matière de diarrhées néonatales ne s'est pas avérée négligeable [2]. De ce fait, il serait souhaitable d'élargir l'enquête dans l'espace et dans le

temps et ce, pour mieux situer l'impact de la colibacillose. Les résultats de l'antibiogramme montrent l'absence d'une antibiorésistance du colibacille F5+ aux antibiotiques couramment utilisés. Néanmoins, il est recommandé de faire un suivi de l'évolution de l'antibiorésistance des souches en appliquant les techniques standardisées permettant de surveiller les éventuelles montées d'une antibiorésistance et d'instaurer un plan thérapeutique approprié, afin de réduire autant que possible l'incidence de cette pathologie chez les veaux nouveau-nés sur le terrain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ACRES S.D., ISAACSON R.E., BABIUK L.A., KAPITANY R.A., 1979, Immunisation of calves against enterotoxigenic colibacillosis by vaccination dams with purified K99 antigen and whole cell bacterin, *Inf. Immunity.*, 25, 121-126.
2. AKAM A., TALI-MAMAAR H., RAHAL Kh., TAHRAT H., CHIRILĂ F., KHELEF D., KAIDI R., LAFRI M., COZMA V., 2004, Fréquence d'isolement des souches d'*Escherichia coli* K99 chez les veaux dans six fermes laitières de la Mitidja d'Algérie., *Bul. USAMV*, 61, 10-15.
3. CHIRILĂ F., 1998, Studiul factorilor de patogenitate la *ESCHERICHIA COLI* și perfectionarea metodelor de diagnostic și imunoprophylaxie in forma enterica de colibaciloză, *Thezà de Doctorat, Facultatea de Medecina Veterinara Cluj-Napoca. Romania*, 296p.
4. CONTREPOIS M., GOUET Ph., 1983, Etiologie des colibacillooses chez les bovins, *Rec. Méd. Vét.*, 159, (3), 159-166.
5. CONTREPOIS M., MARTEL J.L., BORDAS C., HAYER F., MILLER A., RAMISSE J., SENDRAL R., 1985, Fréquence des pili Fy et K99 parmi les souches d'*E. coli* isolées de veaux diarrhéiques en France, *Ann. Rech. Vét.*, 16, (1), 25-28.
6. FASSI-FERHI M.M., JOHSON D.W., TAOUDI A., BERRADA J., 1988, Epidémiologie des diarrhées à *Escherichia coli* et à rotavirus chez le veau et l'agneau au maroc", *Ann. Rech. Vét.*, (19), 59-64.
7. FETIDA M., MARTEL J.B., PERRIN B., MOUSSA A., COUDERT M., SCHERRER R., 1983, Enquêtes épidémiologiques réalisées en France sur les diarrhées néonatales, *Rec. Méd. Vét.*, , 159, (3), 191-201.
8. ISAACSON R.E., MOON H.W., SCHNEIDER B.C., 1978, Distribution and virulence of *Escherichia coli* in the small intestine of calves with and without diarrhoea, *Am. J. Vet. Res.*, (39), 1750.
9. MARTEL J.L., PERRIN B., 1981, Etiologie infectieuse des diarrhées néonatales du veau. Incidences en France des *E. coli* K99+ et des rotavirus, *Bull. G.T.V.*, 4 bis, 222.
10. MARTEL J.L., CONTREPOIS M., DUBOURGUIER H.C., GIRARDEAU J.P., GOUET P., BORDAS C., HAYERS F., QUILLERET-ELIEZ A., RAMISSE J., SENDRAL R., 1981, Fréquence de l'antigène K99 et antibiorésistance chez *E. coli* d'origine bovine en France, *Ann. Rech. Vét.*, (12), 253-257.
11. MOHAMED OU SAID A., CONTREPOIS M., DER VARTANIEN M., GIRARDEAU J.R., 1994, Facteurs et marqueurs de virulence des souches *Escherichia coli* isolées de diarrhées chez les veaux âgés de 4 à 45 jours en Algérie, *Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop.*, 47, (2), 169-175.
12. MORIN M., LARIVIERE S., LALLIER R., BEGIN M., ROY R., ETHIER R., 1978, Neonatal calf diarrhoea: pathology and microbiology spontaneous case in dairy herds and incidence of the enteropathogens implicated as etiological agents. *Proc. Second Intern. Symposium on neonatal diarrhoea, University of saskatchewan, Canada*, 347-370.
13. MORRIS J.A., THORNS J.C., SOJKA W.J., 1980, Evidence for two adhesives antigens on the K99 reference strain *Escherichia coli* B 41, *J. Gen. Microbiol.*, 118, 107-113.
14. NCCLS., 2001, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing". Eleventh Informational Supplement. *Noels document M100-S11*, 21, (1), 300.
15. NCCLS., 2001, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, approved standard., *Flight Edition. M7A5.*, 20, (2), 325.
16. NICOLAS J.A.), DUBOST C., GAYAUD C., NOEL F., 1984, Importance des cryptosporidies dans les diarrhées néonatales du veau". *Le Point. Vét.*, 82, (16), 72-73.
17. PIVONT P., MEUNIER J., LEFERVRE F., BAUDOUIN P., BUGHIN J., ANTOINE H., 1984, Fréquence des cryptosporidies dans les matières fécales des veaux d'une clientèle vétérinaire, *Ann. Méd. Vét.*, 128, 369-374.
18. POHL P., LINTERMANS P., VAN MUYLEN K., 1984, Fréquence des adhésines K99 et Att25 chez les *Escherichia coli* du veau", *Ann. Méd. Vét.*, 128, 555-558.
19. RAMISSE J., 1980, Résultats d'une enquête sur la diarrhée des veaux, *Le Point Vét.*, 53, 53-60.

20. SMITH H.W., LINGERWOOD M.A., 1972, Further observations on *Escherichia coli* enterotoxins with particular regard to those produced by atypical piglet strains and by calf and lamb strains: The transmissible nature of these enterotoxins and of K antigen possessed by calf and lambs strains, *J. Med. Microbiol.*, 5, 243-249.

21. ZRELLI M., MESSADI I., BEN MILED L., HADDAD N., 1989, Fréquence des pili Att25 (Fy) chez les souches d'*E. coli* isolées des veaux, *Maghreb. Vét.*, 4, (17), 69-71.

22. ZRELLI M., DRIDI S., HADDAD N., BEN MILED L., BEN SAID M.S., BOUZOUAIA M., MESSADI L., 1987, Anti-biorésistance des souches d'*E. coli* K99 isolées en élevages laitiers en Tunisie, *Maghreb. Vét.*, 3, (13), 25-27.