

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Vétérinaires

N° d'ordre.....

N° de série.....

**THESE**

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Vétérinaires

Option : Biologie Animale

**THEME**

***Reproduction expérimentale d'une colibacillose chez le poulet  
Comparaison de l'efficacité d'une Fluméquine et d'une Amoxicilline  
par rapport à une Enrofloxacin de référence dans le traitement de  
cette pathologie***

***Présentée par : M. BENSARI CHARAF***

***Directeur de thèse : Prof. D.KHELIFI***

***Devant le jury :***

Président :	<b>H.BERERHI</b>	M.C Département des Sciences Vétérinaires Constantine
Rapporteurs :	<b>D.KHELIFI</b>	Prof. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Examineurs :	<b>R.KABOUIA</b>	M.C. Département des Sciences Vétérinaires Constantine
	<b>B.BENDEDOUCHE</b>	M.C. Ecole Vétérinaire El Harrach
	<b>Z.BOUZEBDA</b>	M.C. Centre Universitaire

d'ELTAREF

***Année Universitaire 2008-2009***

# **REMERCIEMENTS**

A Monsieur **BERERHI EL HACENE**

Maître de Conférence au Département des Sciences  
Vétérinaires El khroub

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury  
de thèse

Hommage très respectueux

A notre jury de thèse

A Monsieur **BENDEDOUCHE BADIS**

Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'El Harrach  
Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse  
Que ce travail exprime nos sincères remerciements

A Monsieur **BOUZEBDA ZOUBIR**

Maître de Conférence au Centre Universitaire d'El Taref  
Que nous remercions d'avoir bien voulu faire partie de notre jury de thèse  
Sincères remerciements.

A Monsieur **KABOUIA RACHID**

Maître de Conférence au Département des Sciences Vétérinaires El khroub  
Qui a bien voulu s'intéresser à notre travail et accepter de le juger  
Sincères remerciements.

A Monsieur **KHELIFI DOUADI**

Professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Ses conseils et son intérêt pour notre travail nous ont permis de  
le mener à terme

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse  
gratitude.

A Monsieur **PIERRE BEZILLE**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon  
Pour son aide dans la réalisation de la partie expérimentale  
Qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude.

A tout le personnel du service de pathologie du bétail pour leur collaboration technique dans la réalisation de ce travail.

Sincères remerciements.

Aux vétérinaire du laboratoire SANOFI ( **Laurent MOGENET, Frédérique SPAVONE** et **Dominique THIBAUT**).

Pour leur accueil et qui nous ont permit d'utiliser l'essai auquel nous avons participé.

Sincères remerciements.

A tout le personnel du laboratoire **HUBBARD SAS**  
Pour leur contribution en matière de ressources dans la rédaction de la partie bibliographique de la thèse.

Hommages reconnaissants

A tout les **enseignants** du département des Sciences Vétérinaire d'El Khroub.

Hommages reconnaissants

A mon regretté père **AISSA**, trop tôt disparu, et qui sans lui ce travail n'aurait pas abouti. Ses encouragements tout au long de mes études m'ont apporté la motivation nécessaire à la réussite, et son souvenir m'a permis d'atteindre ce dont il aurait été fier.

Puisse dieu bénir son âme et lui accorder le repos éternel.

A ma mère **Hadja HOURIA**, en témoignage de mon amour et en reconnaissance des sacrifices qu'elle m'a consentis.

A la mémoire de mon frère **EL HADI**

Que la mort a ravi trop tôt à mon affection et que je serais si heureux d'avoir à mes côtés en cette circonstance.

Puisse Dieu lui accorder le repos et la paix éternelle.

A ma femme **AMEL**

Qui par son courage et sa générosité m'a toujours aidé et soutenu.  
Qu'elle accepte ce travail comme témoignage de ma reconnaissance et mon affection.

A mes enfants **MAYA SERINE** et **SAMY AISSA**

Pour l'affection et l'amour que je leur porte

A toute **ma famille (frères, sœurs, neveux et nièces)**

Que cet ouvrage soit l'expression de toute ma reconnaissance et l'affection que je leur porte.

A mes **beaux parents**

Pour leur gentillesse.

A tout ceux qui me sont chers

A tout mes amis

## **TABLE DES MATIERES**



## ABREVIATIONS

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

## INTRODUCTION

### CHAPITRE I: *INFECTION NATURELLE PAR ESCHERICHIA COLI CHEZ LE POULET: LES COLIBACILLOSES*

<b>1. Bactériologie : les facteurs du pouvoir pathogène</b>	1
1.1 Morphologie et culture	1
1.2 Structure antigénique et immunogène	2
1.2.1 Les différents types d'antigènes	2
1.2.2 Relation entre sérotype et virulence	2
1.3 Les facteurs du pouvoir pathogène	4
1.3.1 L'adhésion à l'épithélium respiratoire	5
1.3.1.1 Méthodes de mise en évidence de la capacité d'adhésion des <i>E. Coli</i>	5
1.3.1.2 Résultats	6
1.3.1.3 Expression des structures d'adhésion	6
1.3.2 Le système aérobactine de captation du fer	9
1.3.3 La résistance au pouvoir bactéricide du sérum	9
1.3.4 La résistance aux colicines	10
1.3.5 La production de toxines	11
1.3.6 Hémagglutination	11
1.3.7 Autres adhésines	12
1.3.8 Antibiorésistance	12
1.4 Rôles des facteurs de virulence	13
1.4.1 Du génome à la pathogénie	13
1.4.2 Essais d'immunisation	14
<b>2. Epidémiologie analytique</b>	15
2.1 Contamination des individus	15
2.2 Taux d'infection	15
2.3 Voies d'entrée et moyen de transmission	16
2.4 Influence de différents paramètres	19
<b>3. Expressions cliniques de l'infection spontanée</b>	21
3.1 Les colibacilloses respiratoires et la colisepticémie	21
3.1.1 La maladie respiratoire chronique	22
3.1.2 Le syndrome de la grosse tête	23
3.1.3 La colisepticémie	24
3.2 Mortalité embryonnaire et mortinatalité	25
3.3 Ovarites et salpingites chroniques chez l'adulte	27
3.4 Formes plus rares	28
3.4.1 Infection synoviale	28
3.4.2 La panophtalmie	29
3.4.3 La coligranulomatose ou maladie de Hijjarre	29
3.4.4 Entérite	29

3.4.5 La dermatite à <i>E. Coli</i>	30
<b>4. Diagnostic</b>	31
4.1 Diagnostic clinique et lésionnel	31
4.2 Diagnostic différentiel	32
4.3 Analyses du Laboratoire	32
4.4 Interprétation des résultats	33
4.5 Traitement	34
4.6 Prévention	34
4.7 Contrôle	35

## **CHAPITRE II: STANDARDISATION DE LA MALADIE**

<b>1. Facteurs liés à la souche influençant la standardisation de la maladie</b>	36
<b>1.1</b> Conditions d'isolement et mise en culture de l'agent de la maladie	36
1.2 Virulence de la souche	37
1.3 Choix de la dose infectante	39
1.3.1 Association avec d'autres facteurs d'agression	40
1.3.1.1 Association d' <i>E. Coli</i> avec un autre agent infectieux	40
1.3.1.2 Association d' <i>E. Coli</i> avec un agent immunodépresseur	42
<b>2. Facteurs liés aux poulets influençant la standardisation de la maladie</b>	43
2.1 Choix de la souche	43
2.2 Influence de l'âge	44
2.3 Influence des conditions d'élevage	45
<b>3. Influence de la voie d'inoculation dans la reproduction de la maladie</b>	47
3.1 Inoculation à l'œuf	47
3.2 Inoculation sous-cutanée	48
3.3 Inoculation intramusculaire	49
3.4 Inoculation au niveau des sacs aériens	49
3.5 Inoculation par voie intranasale	51
3.6 inoculation par voie orale	51
3.7 Inoculation intra trachéale	53
3.8 Inoculation par aérosol	54
<b>4. Critères d'évaluation</b>	55
4.1 Observation clinique des poulets	55
4.2 Lésions et scores lésionnels	56
4.2.1 Lésions typiques	56
4.2.2 Lésions de dermatite	57
4.2.3 Autres lésions	58
4.2.4 Evaluation de l'importance lésionnelle	58
4.3 Isolement de la bactérie et autres examens	59

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE I : REPRODUCTION PAR VOIE AEROSOL**

#### **D'UNE COLIBACILLOSE AVIAIRE**

<b>Objectif</b>	61
<b>1. MATERIELS ET METHODES</b>	62
1.1 MATERIELS	62
1.1.1 Protocole de l'essai	62

1.1.2 Animaux et animalerie	63
1.1.3 Infection expérimentale	63
1.1.3.1 bactérie (espèce et sérotype)	63
1.2 METHODES	63
1.2.1 Préparation de l'inoculum bactérien	63
1.2.2 Modalités d'administration	63
1.2.3 Stress	64
1.2.4 Critères de suivi et d'enregistrement	65
1.2.5 Analyses du laboratoire	66
<b>2. Résultats</b>	66
2.1 Mortalité	68
2.2 Score lésionnel	69
<b>3. Discussion</b>	69
3.1 Reproduction de la colibacillose	69
3.2 Discussion du protocole	70
3.3 Analyse statistique	71
<b>4. Conclusion et recommandations</b>	72
<b>CHAPITRE II : <i>Reproduction expérimentale d'une colibacillose chez le poulet :Efficacité comparée d'une Fluméquine par rapport à une Enrofloxacine de Référence dans le traitement de cette pathologie</i></b>	
	73
<b>Objectif</b>	
1. Principes généraux	74
2. Matériel et méthodes	74
2.1 Matériel	74
2.1.1 Produits en étude	74
2.1.2 Animaux et Animalerie	75
2.1.2.1 Poulets	75
2.1.2.2 Animalerie	76
2.2 Méthodes	76
2.2.1 Constitution des lots et traitement	76
2.2.1.1 Inoculation	76
2.2.1.2 Traitement	77
2.2.1.3 Administration des traitements	77
2.2.1.4 Commentaires	78
2.2.2 Déroulement de l'essai, critères de suivi et enregistrement	78
2.2.2.1 Déroulement de l'essai	78
2.2.2.2 Critères de suivi	79
2.2.2.2.1 Morbidité	79
2.2.2.2.2 Mortalité	79
2.2.2.2.3 Score lésionnel	79
2.2.2.2.4 Poids j0 - j9 par lot	80
2.2.2.2.5 Consommations	80
2.2.3 Analyses de laboratoire	80
2.2.4 Analyse statistique et interprétation des résultats	80
<b>3. Résultats et discussion</b>	81
3.1 Mortalité	82

3.2 Morbidité	84
3.3 Scores lésionnels	87
3.3.1 Animaux survivants	87
3.3.2 Animaux morts	87
3.4 Poids	88
3.5 Autres critères	89
3.5.1 Consommation d'eau	89
3.5.2 Consommation d'aliment	90
3.5.3 Croît total et indice de consommation	92
<b>4. Discussion générale</b>	<b>93</b>
4.1 Protocole	93
4.2 Résultats	93
4.2.1 Mortalité	93
4.2.2 Morbidité	93
4.2.3 Score lésionnel	93
4.2.4 Poids des animaux	94
4.2.5 Consommation d'eau, d'aliment, croissance et indice de consommation	94
<b>5. CONCLUSION</b>	<b>94</b>

**CHAPITRE III: REPRODUCTION  
EXPERIMENTALE DE LA COLIBACILLOSE CHEZ  
LE POULET : APPLICATION A L'EVALUATION  
DE L'EFFICACITE D'UNE AMOXICILLINE PAR  
RAPPORT A UNE ENROFLOXACINE DE  
REFERENCE**

<b>Objectif</b>	<b>96</b>
<b>1. Matériel et méthodes</b>	<b>96</b>
1.1 Matériel	96
1.1.1 Sélection des animaux	96
1.1.1.1 Choix des animaux	96
1.1.1.2 Définition des groupes	96
1.1.1.3 Hébergement des animaux	96
1.2 Méthodes	97
1.2.1 Inoculation et traitement	97
1.2.1.1 Inoculation d' <i>E Coli</i>	97
1.2.1.2 Produits à l'étude	98
1.2.1.3 Schéma de traitement	98
1.2.1.4 Posologie réellement distribuée	99
1.2.5 Observations	99
1.2.5.1 Mortalité	99
1.2.5.2 Croissance de l'ensemble du lot	99
1.2.5.3 Morbidité	100
1.2.5.4 Score lésionnel	100
1.2.5.5 Bactériologie	100
1.2.6 Analyse statistique	101
<b>2. Résultats</b>	<b>101</b>
2.1 Mortalité	101
2.1.1 Mortalité quotidienne	101

2.1.2 Mortalité cumulée	102
2.2 Morbidité	103
2.3 Scores lésionnels	106
2.3.1 Scores lésionnels des animaux morts en cours d'étude	106
2.3.2 Scores lésionnels des animaux sacrifiés à J11	107
2.4 Croissance	109
2.4.1 Poids des poulets	109
2.4.2 Gain moyen quotidien	109
2.4.3 Consommation alimentaire	110
2.4.4 Consommation d'eau	110
2.5 Bactériologie	112
<b>3. Discussion</b>	<b>112</b>
3.1 Discussion des résultats	112
3.2 Discussion du modèle expérimental	113
<b>4. CONCLUSION</b>	<b>117</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>119</b>
<b>ILLUSTRATIONS ET ANNEXES</b>	

# **ABREVIATIONS**

*E .coli* : Eschérichia Coli

CR+ : Rouge Congo positif

CR- : Rouge Congo négatif

DL<sub>50</sub> : Dose infectant l'œuf à 50%

PI : Poids initial

PF: Poids final

IM : Intramusculaire

IV : Intraveineuse

AS : Aérosol

EB : Eau de boisson

IC : Indice de consommation

EPEC : Eschérichia Coli entéro-pathogène

RTI : Rhinotracheite infectieuse

BIV : Virus de la bronchite infectieuse

NDV : Virus de la maladie de Newcastle

CFU : Colonie formant unité

SSNA : Sanofi santé nutrition animale

CMI : Concentration minimale inhibitrice

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## **INTRODUCTION**

Ces dernières décennies la production et la consommation de volailles ont considérablement évolué. Les volailles ont quitté la basse-cour pour une production rationalisée, industrialisée, dont la filière s'est structurée. En aviculture la filière poulet de chair conserve la première place avec trois types de production : export, standard et label. De plus, alors que les oiseaux étaient traditionnellement consommés entiers, les produits transformés issus des ateliers de découpe prennent de plus en plus de part de marché.

Cependant, alors que l'industrie en aviculture passe généralement par une bonne maîtrise des facteurs d'ambiance, les importantes densités d'animaux en élevage impliquent des risques sanitaires permanents. En ce qui concerne les maladies respiratoires plusieurs facteurs peuvent intervenir agissant en synergie avec les colibacilles souvent considérés comme agents pathogènes.

La colibacillose aviaire est une pathologie dominante dans les problèmes respiratoires des volailles en élevage industriel. C'est une maladie infectieuse, contagieuse, inoculable dans certaines conditions, due le plus souvent à des souches de sérotypes O1K1, O2K1 et O78K80 réputés hautement pathogènes ( Gross et all., 1991, Mogenet et all.,1997, chanteloup et all.,1991, charles et all., 1994, cloud et all., 1986).

Les autres sérotypes représentés de manière significative sont : O<sub>8</sub>, O<sub>15</sub>, O<sub>18</sub>, O<sub>35</sub>, O<sub>88</sub>, O<sub>109</sub>, O<sub>115</sub> et O<sub>116</sub> ( Brée et all.,1989,Dho Moulin et all.,1990.,Babai et all.,1997,Dho Moulin et Fairbrother.,1999.,Blanco et all.,1997). Cette affection à point de départ respiratoire est secondaire à une infection virale ou mycoplasmique, elle se traduit cliniquement par des lésions fibrineuses des séreuses (péricardite, péri hépatite et conduit par la suite à une septicémie entraînant la mort de l'animal. Son importance hygiénique est pratiquement



nulle, bien que quelques souches pathogènes pour les volailles se rencontrent également dans les néphrites et les cystites de l'homme (Charles et al., 1994).

Ces dernières années l'incidence de la maladie s'est notablement accrue, cette augmentation est imputable au développement des méthodes d'élevage intensif dans tous les secteurs de l'aviculture, la colibacillose aviaire est une maladie fréquente économiquement importante en élevage industriel de volailles et une des principales causes de la mortalité chez les poulets et les dindes et la cause significative des pertes économiques dans l'élevage industriel des volailles et représente une importante cause de saisie à l'abattoir (El Fadil et al., 1996). Elle est souvent considérée comme une infection secondaire (Nakamura et al., 1992) à l'exception de l'infection de la membrane vitelline, elle est responsable de pertes économiques majeures dans les élevages avicoles. Les pertes dues à la colibacillose sont si importantes que l'on doit s'attacher à trouver un traitement ou une prophylaxie efficace (Chanteloup et al., 1991).

Son importance économique est considérable. Les pertes dues à la colisepticémie correspondent aux mortalités observées aux contre performances économiques des lots infectés aux troubles de la reproduction, chute de l'éclosabilité, augmentation de la mortalité en coquille ou pendant les premiers jours (Mogenet et al., 1997). La sensibilité des volailles est maximale d'une part, et d'autre part à l'âge de deux à trois semaines ou la maladie n'a souvent qu'une faible incidence, et d'autre part vers l'âge de six à neuf semaines où les conséquences sont beaucoup plus importantes.

Selon une étude réalisée dans les abattoirs anglais, 43 % des carcasses saisies pour une cause de maladie présentaient des lésions de péricardite, de périhépatite et d'aérosacculite typiques de la colibacillose, considérant les autres causes de saisies ou les pertes dues au transport, on estime à environ 5 ou 6 millions d'euros par an, les montants des pertes dues à la colibacillose en Angleterre (Yogarathnam, 1995). A cela viennent s'ajouter les retards de croissance, les mortalités en élevage et les frais en antibiothérapie qu'engendrent les diverses manifestations de cette maladie.

La mise en place d'un modèle expérimental reproduisant la colibacillose permettrait l'évaluation de l'efficacité de méthodes de prophylaxie sanitaire ou médicale (antibioprévention, vaccins, flores de barrière...) ou de traitement curatifs ainsi que l'analyse

des facteurs étiologiques prédisposant à la colibacillose. Un tel modèle contribuerait ainsi à une meilleure maîtrise de cette affection dans les élevages.

A partir d'une étude bibliographique nous ouvrirons notre exposé sur une présentation des colibacilloses aviaires telles qu'elles se présentent suite à une infection naturelle. Ensuite nous mettrons en évidence les différents critères à considérer lors de la mise au point d'un modèle expérimental, nous pourrons alors envisager des essais d'évaluations de l'efficacité des molécules anti infectieuses dans le traitement de cette pathologie.

La discussion des résultats permettra d'aboutir à l'amélioration du modèle proposé.

# **CHAPITRE I**

## **INFECTION NATURELLE PAR ESCHERICHIA COLI**

### **CHEZ LES POULETS : LES COLIBACILLOSES AVIAIRES**

L'agent responsable du développement des colibacilloses est *Escherichia coli*. De nombreuses souches de *E. coli* infectent la plus part des mammifères et des oiseaux. Chez les volailles la maladie se développe le plus souvent chez les poulets .les dindes et les canards (GROSS, 1991)

Nous commencerons notre exposé par la présentation de l'agent infectieux puis nous nous limiterons au descriptif de la maladie.

## **1.BACTERIOLOGIE : LES FACTEURS DU POUVOIR PATHOGENE**

De nombreux critères ont été utilisés pour définir et quantifier le pouvoir pathogène des colibacilles isolés chez les oiseaux et capable de reproduire la maladie dans les conditions expérimentales.

### **1.1 MORPHOLOGIE ET CULTURE**

*Escherichia coli* est un bacille gram négatif uniformément coloré, non sporulé, appartenant à la famille des entérobactéries. Sa taille (2-3 x 0.6 µm) et sa forme peuvent varier et de nombreuses souches possédant des flagelles péritriches sont mobiles.

*E. coli* pousse sur milieu ordinaire à des températures comprises entre 18 et 44° C, voire plus bas. Incubées 24 heures sur gélose agar à 37°C, les colonies sont convexes, lisses et incolores. Elles ont en général un diamètre compris entre 1 et 3 mm avec une structure granulaire et une marge intacte (GROSS, 1991).

Les *E. coli* des volailles possèdent les mêmes propriétés biochimiques que celles isolées à partir d'autres espèces. Par exemple, en ce qui concerne la fermentation des sucres, les *E. coli* synthétisent des gaz et de l'acide en présence de glucose, maltose, mannitol, xylose, glycérol, rhamnose, sorbitol ou d'arabinose mais pas en présence de dextrine, d'amidon, ou d'inositol.

D'autre part elles produisent une réaction positive au méthyl rouge mais négative à la réaction de Voges-Proskauer.

D'autres réactions les mettent en évidence (GROSS, 1991), mais les critères biochimiques ne permettent pas de différencier correctement les colibacilles pathogènes des saprophytes (LECOANET, 1992). Néanmoins lors d'un essai ils permettent de vérifier la présence ou l'absence du colibacille.

## **1.2 STRUCTURE ANTIGENIQUE ET IMMUNOGENE**

Chaque souche d' *E. coli* est définie par un sérotype lui-même déterminé par l'association de différents antigènes. Ce sérotype est déterminant dans la pathogénicité de la bactérie.

### **1.2.1 LES DIFFERENTS TYPES D'ANTIGENES**

On distingue environ 157 antigènes somatiques de type O (Ag O) chez les colibacilles. L'antigène somatique ou antigène de la paroi est l'endotoxine libérée lors de l'autolyse des cellules. Il est composé de complexes des phospholipides et polysaccharides avec une fraction protéique résistant à l'ébullition. Quinze (15) sérotypes sont actuellement recensés chez les volailles.

L'antigène capsulaire (Ag K), dont on dénombre 99 types différents, est constitué de polymères d'acide contenant des sucres réducteurs (2%). Ils peuvent être dénaturés lors

du chauffage à 100°C pendant une heure. Selon leur stabilité à la chaleur les antigènes K sont subdivisés en 3 groupes : L, A et B.

Se retrouvant à la surface des cellules ils sont associés à la virulence de la souche et interviennent lors de l'agglutination des antigènes O.

Quant à l'antigène flagellaire (Ag H) il est utilisé pour l'identification d' *E. coli* et n'intervient pas dans la pathogénicité. Il s'agit de protéines détruites lors du chauffage à 100°C.

### **1.2.2 RELATION ENTRE SEROTYPE ET VIRULENCE**

Plus de 1000 sérotypes d' *E. coli* ont été identifiées mais seul un petit pourcentage impliqué dans l'atteinte des sacs aériens des volailles. Plusieurs études sérologiques ont

révélé que les prélèvements associés à une infection par *E. coli* chez les volailles correspondent principalement aux sérogroupes O1, O2 et O78 (CLOUD et coll, 1985).

La très grande variété de souches a été étudiée <sup>2</sup> de de critères variés : fermentation des sucres, sérotypage des antigènes somatiques O, flagellaires H et capsulaires K, électrophorèse des protéines de la membrane externe, résistance aux colorants, antibiorésistance, profil plasmidique, polymorphisme des gènes codant les enzymes ( KEMPF et all., 1993).

En effet plusieurs équipes ont recherché des marqueurs de virulence. Certains chercheurs ont remarqué que les sérotypes O1, O2 et O78 avaient des propriétés biochimiques similaires, telles que la fermentation de certains sucres ou de réactions enzymatiques. Ils ont alors supposé qu'une forte activité métabolique pourrait être caractéristique de souches fortement virulentes ou de sérotypes spécifiques associés aux colibacilles aviaires (Guérin et all., 2008).

Selon CLOUD et coll. (1985), pour les souches isolées de volailles, il ne semble pas exister de corrélation entre les caractères biochimiques, la mobilité, la résistance aux antibiotiques et la pathogénicité. Par exemple, 79% des souches O35 testées fermentent l'adonitol, 50% l'ornithine. Ces résultats ne peuvent être utilisés pour

l'identification des sérotypes car d'autres bactéries peuvent avoir des propriétés analogues.

NAVEH et coll. (1984), ARP et JENSEN (1980) et SUWANICHKUL et coll. (1986) soulignent l'importance des pilis qui permettent l'adhésion des bactéries pathogènes aux cellules de l'épithélium trachéal.

DHO et LAFONT (1984), montrent que les propriétés d'adhésion et les systèmes de captation du fer sont impliqués dans le pouvoir pathogènes des colibacilles aviaires.

Pour WHITTAM et WILSON (1988) l'analyse des profils électrophorétiques liés aux variations alléliques de quinze enzymes suggère que la colibacillose aviaire est causée par un nombre limité de clones pathogènes ; ainsi, dans leur étude, la majorité des souches responsables de pathologies respiratoires appartiennent aux deux groupes A et B, définis en fonction de leur profil électrophorétique, et plus de la moitié des souches appartenant à ces deux groupes ont été liées de lésions d'aérosacculites ou de péricardites.

De fait, les études épidémiologiques (CLOUD et coll., 1985) révèlent que chez le poulet, les sérotypes les plus fréquemment isolés sont O2 (26,6%) et O78 (11,3%) : 30/47 des souches O2 et 16/20 des souches O78 testées se révèlent hautement pathogènes pour le poulet.

Parmi les 1000 sérotypes connus un faible nombre joue un rôle important en pathologie aviaire. Trois groupes sérologiques O1K1, O2K1, O78K80 représentent la majorité des souches pathogènes de colibacilles aviaires. Par contre d'autres sérotypes pathogènes sont isolés (O35) et peuvent révéler une certaine spécificité pour une espèce (O86 et le canard) ou pour une expression clinique particulière de la maladie (O15 pour les synovites, O<sub>109</sub> pour les aérosacculites).

Lors de l'expérimentation le choix de la souche se fera parmi les sérotypes les plus fréquemment rencontrés. De plus la virulence de cette souche devra être suffisamment importante pour permettre des résultats significatifs.

### **1.3 LES FACTEURS DU POUVOIR PATHOGENE**

Le pouvoir pathogène est à déterminisme plurifactoriel (LECOANET, 1992). Les mécanismes et les modalités d'action des souches pathogènes de colibacilles aviaires sont imparfaitement connus, mais aucune endotoxine ni aucune hémolysine ne semblent associées à la capacité d' *E. coli* d'induire une maladie chez les oiseaux.

Les isollements d' *E. coli* pathogènes et non pathogènes présentent parfois des caractéristiques biochimiques et des sensibilités semblables aux anti-infectieux (GROSS, 1991).

Cependant la virulence des souches aviaires pathogènes nécessite certains caractères liés à la cellule (CHAFFER et coll., 1997). Par exemple les souches non pathogènes ne possèdent aucune des deux propriétés d'adhésion à l'épithélium trachéal et de captation du fer que l'on retrouve chez 52% des souches pathogènes.

Chez les mammifères le tableau clinique de l'infection par des colibacilles est dominé par la présence de diarrhées alors que l'entérotoxigénicité n'intervient que dans moins de 10% des cas chez les volailles. Les facteurs<sup>4</sup> de virulence des souches aviaires sont de même sensiblement différents de ceux retrouvés chez les souches des mammifères. (John et all.,2002, Ana cristina et all., 2002)

### **1.3.1 L'adhésion à l'épithélium respiratoire**

L'adhésion à l'épithélium respiratoire peut jouer un rôle déterminant en ce qui concerne les affections respiratoires.

En 1978 ARP expose des dindons à des aérosols d' *E. coli* et montre que les souches pathogènes persistent plus longtemps que les souches non pathogènes dans les voies respiratoires.

En 1982 DHO et LAFONT démontrent que les souches pathogènes présentent une meilleure aptitude à coloniser la trachée de poulets axéniques ou SPF. D'où l'hypothèse que l'adhésion bactérienne peut intervenir dans les premières étapes de colonisation de l'animal.

Deux ans plus tard (DHO et LAFONT, 1984) ils établissent une corrélation entre la propriété d'adhésion (mesurée par des tests d'adhésion in vitro aux cellules épithéliales du pharynx de poulets axéniques) et la virulence évaluée par la DL<sub>50</sub> pour le poussin d'un jour.

#### **1.3.1.1 Méthode de mise en évidence de la capacité d'adhésion des *E. coli***

Des études permettant de quantifier les propriétés adhésives ont permis de démontrer que 63% des souches adhésives et seulement 23% des souches non adhésives étaient virulentes.

Il est probable que ces capacités d'adhésion sont fonction de la présence à la surface des bactéries pathogènes de pili facilitant in vivo comme in vitro l'adhésion des *E. coli* aux cellules épithéliales de la trachée du poussin, ces structures ne s'exprimant que pour certaines températures de culture (37°C). La présence de ces pili augmente en effet la gravité et la fréquence de la maladie expérimentale (Benoît L., 2003)

L'attachement spécifique de *E. coli* (O1K1, O2K1, O78K80) à l'épithélium trachéal de poulet a été étudié en utilisant des facteurs d'inhibition de l'adhérence.

Le rôle des pili dans l'adhésion a été mis en évidence en bloquant les pili à l'aide d'anticorps antipili.

Quant à la nature des récepteurs de la cellule hôte a été déterminé en bloquant l'adhésion de la bactérie avec des hydrocarbonates ou des lectines spécifiques et en détruisant le récepteur avec du métaperiodate de sodium.

#### **1.3.1.2 Résultat**

Les pili des sérotypes pathogènes O1, O2 et O78, isolés et purifiés par centrifugation en gradient de densité présentent une densité et une morphologie identiques. Sur le plan antigénique les pili des O78 appartiennent au sérotype de référence 1 au quel semblent aussi apparentés les pili O2. Les pili O1 ne sont pas encore répertoriés cependant quelques souches non virulentes peuvent être adhésives.

Les anticorps antipili des 3 sérotypes inhibent de façon significative leur adhérence, ce qui suppose le rôle de monosaccharides au niveau du récepteur de la cellule hôte.



Le D-mannose et son dérivé le méthyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside, inhibent l'adhésion des a été confirmé par l'inhibition de ces deux sérotypes par la concanavoline A. par contre aucun des sucres ou des lactines n'a permis l'inhibition du sérotype O2 (GYIMAH, 1987).

### 1.3.1.3 Expression des structures d'adhésion

Différents tests phénotypiques ont permis de mettre en évidence les structures responsables de l'adhésion des *E. coli* aviaires : hémagglutination, , inhibition de l'adhésion par le D- mannose.

Ces structures sont des fimbriae de type 1 (SHUWANICHKUL et coll., 1987 ; DHO-MOULIN et al., 1990) de nature protéique codés par le chromosome (HACKER,1990). Ils sont constitués d'une sous-unité majoritaire, la fimbriæ et de plusieurs sous-unités minoritaires, parmi lesquelles l'adhésine, protéine fonctionnelle responsable de l'adhésion aux résidus de D-mannose présents sur les 6 s épithéliales.

L'étude des protéines constituant les fimbriae de type 1 présents sur les *E. coli* aviaires a mis en évidence une variabilité de la fimbriae, en relation avec le sérotype des souches (DHO-MOULIN et al., 1990). Par contre, le poids moléculaire et les propriétés antigéniques de l'adhésine semblent beaucoup plus constants (CHANTELOUP et al., 1991)

D'autres types de fimbriae ont été détectés tels que ceux du type P et F1C (DHO-MOULIN et al., 1990) la présence de l'opéron pap, responsable de la synthèse des fimbriae de type P a été démontré dans 44% des souches isolées de poulets septicémiques (DOZOIS et al., 1992). Cependant l'expression phénotypique des fimbriae de type P n'a été mise en évidence que dans un faible pourcentage de cas. La signification de la présence de l'opéron pap chez les souches aviaires est actuellement à l'étude. Les fimbriae F1A (type 1) ou variants sont impliquées dans l'adhésion in vitro aux cellules pharyngées et trachéales des poulets (Marc et all., 1998). Son expression ne fut jamais observée dans d'autres organes ni dans le sang (Dozois et all., 1994). Cependant les fimbriae P n'interviennent pas dans l'adhérence in vitro aux cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur.

Pour suivre l'évolution des *E. coli* dans l'organisme (POURBAKHSH et all., 1997 a, Jordan et Patisson., 1996) ont étudié l'expression in vitro des fimbriae P et F1 chez les

bactéries colonisant les poumons, les sacs aériens et les organes internes des oiseaux (Foie, Coeur et rate). Ils en ont déduit que l'expression des fimbriae varie selon l'organe colonisé.

Par exemple la muqueuse trachéale des poulets possède des récepteurs aux fimbriae F1 mais pas de récepteurs aux fimbriae P. seuls les fimbriae F1 ont la possibilité de se fixer au niveau de l'épithélium trachéal et les bactéries n'expriment alors pas de fimbriae de type P à ce niveau. Les fimbriae F1 sont probablement impliquées dans la colonisation initiale du tractus respiratoire supérieur des oiseaux, tandis que les fimbriae P interviendraient dans la colonisation des organes et le développement de la septicémie.

( Dozois et al., 1995)

L'expression des fimbriae F1 semble s'atténuer lors de la progression des *E. coli* le long du tractus respiratoire : elle est moins intense dans les sacs aériens et le poumon qu'au niveau de la trachée. D'autre part des sites de fixation ont également été mis en évidence au niveau des reins. Par contre les fimbriae P ne s'expriment pas chez les *E. coli* localisées dans le sang et les liquides interstitiels.

Les fimbriae de type P furent d'abord découverts chez des souches d'*E. coli* associées à des infections du tractus urinaire supérieur chez l'homme (Kallenius et al., 1981). Ils jouent un rôle important dans l'adhérence aux cellules uroépithéliales et dans le développement des pyélonéphrites.

Il faut noter cependant que toutes les souches pathogènes ne produisent pas de fimbriae P ; ces fimbriae ne seraient donc pas indispensables au développement de la colisepticémie aviaire mais présenteraient un avantage dans certains processus pathologiques car la protéine pap G, localisée en région distale des fimbriae P, protège les *E. coli* de l'action bactéricide des neutrophiles.

An a montré in vitro que l'expression des fimbriae dépend de l'environnement (Température, pH), des nutriments (glucose, alanine), de la phase de croissance et du régime (variation, réarrangement génomique). L'expression des fimbriae peut aussi varier in vitro selon les différentes étapes d'infection de l'hôte (POURBAKHS et coll. ; 1997 a).

Le phénomène d'adhésion bactérienne aux voies respiratoires des volailles est donc lié à la présence de fimbriae de type 1 à la surface des souches pathogènes d' *E. coli* capables de se fixer au résidu D-manose en surface des cellules épithéliales du tractus respiratoire (Benoît L., 2003).

Il est cependant possible que d'autres mécanismes interviennent, tel que la fixation à la fibronectine cellulaire par l'intermédiaire de certains fimbriae de type 1 (GONZALES et al., 1990). L'exploration des propriétés multiples exprimées par les fimbriae type1 est loin d'être terminée : d'autres études montrent qu'ils sont également susceptibles de se fixer au plasminogène et d'induire ainsi une activité plasmine, ou encore d'interférer avec la phagocytose (PARKINNEN et KORHONEN, 1989)

### **1.3.2 Le système aérobactine de captation du fer**

La faible quantité de fer disponible dans les liquides physiologiques ne permet pas aux bactéries de pouvoir s'y multiplier. C'est pourquoi, elles ont acquis un système très efficace de captation du fer leur permettant de survivre en présence de faibles concentrations en fer. Plusieurs études ont montré que la plupart des souches EPEC (73-98%) possède le système d'acquisition du fer appelé aérobactine, alors que les souches non pathogènes le produisent moins fréquemment (Dho et al., 1984; Lafont et al., 1987; Emery et al., 1992). Ce système, dont l'opéron est situé sur un grand plasmide (80Kb), fonctionne *in vivo* et son rôle principal serait de permettre aux bactéries de pouvoir se multiplier dans le sang ou les organes autres que l'intestin (Williams, 1979; Vidotto et al., 1991; Wooley et al., 2000). La production d'aérobactine est possible par les colibacilles responsables d'infections systémiques et les bacilles entéro-invasifs (WILLIAMS et ROBERTS, 1989; POHL, 1993).

Chez les *E. coli* aviaires, l'expression du système aérobactine, mise en évidence par des tests génotypiques et par des tests phénotypiques, est corrélée à la virulence testée par le taux de létalité sur le poussin d'un jour (LAFONT et al., 1987).

Le déterminisme génétique du système aérobactine chez les *E. coli* aviaires est probablement plasmidique, comme l'ont montré des études préliminaires localisant l'opéron aérobactine sur des plasmides col Y (VALVANO, 1992). Il n'est cependant pas exclu que dans certaines souches ces gènes puissent être portés par le chromosome.

### **1.3.3 La résistance au pouvoir bactéricide du sérum**

La résistance au pouvoir bactéricide du sérum est un phénomène multifactoriel faisant intervenir des antigènes de surface de la bactérie qui interfèrent avec les défenses non spécifiques de l'hôte. Elle peut être appréciée en mettant un inoculum connu de bactéries en présence de sérum, et en effectuant des comptages bactériens à intervalles réguliers.

L'étude de (ELLIS et al. 1988) sur 25 souches d' *E. coli* isolées de dindes, montre que la résistance au pouvoir bactéricide du sérum est souvent associée à la virulence mesurée par un test de létalité sur dindonneaux. (DOZOIS et al. 1992) ont mis en évidence une association de même type.

Cependant la résistance au pouvoir bactéricide du sérum, définie principalement par un test de croissance bactérienne, nécessite des études plus détaillées des mécanismes en jeu qui peuvent probablement être différents selon les souches. Par exemple l'antigène capsulaire K1, présent sur les souches du sérotype 02, est susceptible d'interrompre la cascade du Complément (CROSS, 1990).

#### **1.3.4 La résistance aux colicines**

Les bactériocines sont des substances bactéricides produites par de nombreuses espèces de bactéries à Gram négatif ou positif et actives sur d'autres souches des mêmes espèces bactériennes ou d'espèces voisines. La production de bactériocine par une souche est gouvernée par un plasmide.

Une souche produisant une bactériocine est résistante à la bactériocine qu'elle produit. L'étude de la sensibilité d'une souche à d'autres bactériocines permet un marquage utilisable à des fins épidémiologiques. La détermination du bactériocinotype n'est faite que par des laboratoires très spécialisés. La bactériocinotypie effectuée pour *Escherichia coli* révèle les colicines.

Les colicines agissent contre les bactéries en inactivant l'ARN et la synthèse des protéines, en dégradant l'ADN, en inhibant la phosphorylation oxydative et en altérant la perméabilité membranaire.

Des souches d' *E. coli* peuvent être résistantes à plusieurs colicines. La résistance apparaît suite à la perte des récepteurs de colicine, par inactivation directe de la

colicine, ou en produisant un plasmide codant pour une protéine "immunitaire" dirigée contre la colicine. (Penelope S et al., 2003).

Les plasmides codant pour la colicine V (Col V), d'abord trouvés chez les entérobactéries virulentes, codent pour plusieurs propriétés virulentes autre que la production de Col V. On retrouve ainsi la présence de plasmides de transfert et du système aérobactine-fer, la capacité de survivre dans le sérum et de résister à la phagocytose, la mobilité, l'hydrophobie et l'adhérence à l'épithélium intestinal (WOOLEY et al., 1994 et MUSANGU et al., 1996)

### 1.3.5 La production de toxines

10

Les E coli aviaires ne produisent pas d'hémolysine

La production d'entérotoxines semble anecdotique:

- o SEKIZAKI et al, (1984) décrivent la production d'une toxine thermostable, de type Sta par une souche isolée de poulet;
- o TSUJI et al. (1988) ont étudié une entérotoxine thermolabile, identique à la toxine LT de la souche d'origine humaine HI0407, produite par une souche d'E. coli aviaire isolée aux Philippines.

Parmi les substances à activité cytotoxique, la "chick-lethal-toxin" de Truscott, ou la toxine Vir de Williams Smith proche de CNF2 (OSWALD et DE RYCKE, 1990), bien que mises en évidence sur des souches isolées de poulets n'ont été retrouvées que sur quelques souches d'origine aviaire.

Par contre l'étude de EMBRY et coll. (1992), sur 500 souches d'origine aviaire met en évidence deux types de cytotoxines dans un pourcentage relativement élevé : une toxine thermolabile cytotoxique pour les cellules Y1 et les cellules Véro en culture (6 % des souches), et une vérotoxine active seulement sur les cellules Véra (13 % des souches).

La caractérisation plus précise de ces toxines pourrait être d'un grand intérêt. D'autres

études montrent que les souches APEC sont capable de produire des toxines pouvant être impliquées dans le processus pathogénique (Kata et all., 1992, Pareira et all., 1998).

### **1.3.6 Hémagglutination**

Récemment, il a été montré que le gène *tsh* isolé d'une souche EPEC (E. Coli entérotoxigène) de poulet et localisé sur un plasmide codant pour une hémagglutinine sensible à la température, est associé préférentiellement à ces souches et ne se retrouve pas chez des souches d'*E. coli* isolées de fèces d'animaux sains (Provence et Curtiss et all, 1994). La prévalence du gène *tsh* a été d'ailleurs investiguée sur une collection de 300 souches APEC testées sur le modèle du poussin d'un jour. Les résultats indiquent que parmi les souches possédant le gène *tsh*, 90,6 %<sup>11</sup> partie des souches les plus virulentes (Dozois et al., 2000). De plus, des études menées avec un mutant *tsh* montrent que Tsh peut contribuer au développement des lésions dans les sacs aériens, mais n'est pas nécessaire à la bactérie pour coloniser l'ensemble de l'animal et créer des lésions de péricardite, périhépatite et induire de la septicémie (Dozois et al., 2000).

### **1.3.7 Autres adhésines**

Des études récentes d'hybridation sur colonies basées sur une collection de 1600 souches d'*E. coli* aviaires isolées d'animaux morts de colibacillose ont mis en évidence que des adhésines F17 et Afa VIII présentes chez d'autres espèces animales comme le bovin ou le mouton (Pohl et Mainil, 1995; Martin et al., 1997; Mainil et al., 1997; Le Bouguéneq et al., 1999; Lalioui et al., 1999; Gérardin et al., 2000; Mainil et al., 2000), et jusqu'alors non décrites chez la volaille, sont également présentes chez celle-ci (Stordeur et al., 2002).

### **1.3.8 Antibiorésistance**

Depuis 1950 les mesures de contrôle d'infection par *E. coli* associée à la maladie dépendaient surtout de mesures prophylactiques ou de l'emploi thérapeutique de certains antibiotiques, de la vaccination contre les virus respiratoires et de mesures sanitaires concernant les couvoirs. Or les souches résistantes aux antibiotiques se multiplient. La résistance à un ou plusieurs antibiotiques peut être transférée par l'intermédiaire des plasmides de façon intra spécifique, interspécifique ou entre des bactéries de genres

différents. Par exemple, bien que la streptomycine soit rarement utilisée, la forte résistance à cet antibiotique peut être associée

Aux transferts de plasmides responsables aussi de la résistance aux tétracyclines (CLOUD et coll., 1985).

D'autres marqueurs de virulence ont été étudiés : le pouvoir hémagglutinant, la sensibilité au mannose et l'hydrophobicité de surface cellulaire dont sont pourvues

respectivement plus de 62% et 85% des souches  $12^+$  lentes (LECOANET, 1992).

## 1.4 ROLES DES FACTEURS DE VIRULENCE

L'étude in vitro des facteurs potentiels de virulence confirme que les *E. coli* aviaires ne sont pas de simples bactéries opportunistes, mais possèdent des propriétés qui leur permettent théoriquement de franchir les étapes successives d'invasion de l'hôte.

### 1.4.1 Du génome à la pathogénie

L'étude du génome de la bactérie permet de mieux comprendre l'origine des facteurs de virulence. Ainsi l'expression des fimbriae de type 1 a été visualisée par immunofluorescence dans la trachée et les sacs aériens de poulets axéniques, après inoculation de souches d' *E. coli* pathogènes (DOZOIS et al. 1994). L'obtention de mutations dans les opérons responsables de la synthèse des fimbriae devrait permettre de préciser leur rôle dans la pathogénie en comparant les souches fimbriae positives et fimbriae négatives.

De même la comparaison de souches d' *E. coli* KI+ d'origine humaine et de leurs mutants isogéniques KI-, montre qu'en l'absence de l'antigène KI, la létalité pour le poussin d'un jour décroît significativement, la DL50 passant de  $10^2$  à  $10^7$  bactéries (CZIROK et al., 1990). D'autre part, plusieurs études ont démontré le rôle des plasmides de haut poids moléculaire dans la virulence d' *E. coli* pour le poulet. Suivant les souches étudiées, ces plasmides codaient pour un ou plusieurs facteurs de virulence. (IKE et al., 1992), après avoir obtenu la cure d'un plasmide de 100 Mdal (pK.II00) d'une souche pathogène aviaire 02, ont

observé une perte simultanée de la virulence pour le poussin et de la résistance au pouvoir bactéricide du sérum.

Nous pouvons ainsi schématiser l'intervention des différents facteurs de virulence dans la pathogénie de la bactérie. L'adhésion par l'intermédiaire des fimbriae de type 1 interviendrait dans la première étape de colonisation de l'appareil respiratoire, puis le système aérobactine permettrait la multiplication dans l'organisme. La résistance aux défenses immunitaires de l'hôte serait assurée par la résistance au pouvoir bactéricide du sérum dans laquelle sont impliqués des antigènes de surface encore incomplètement

définis.

13

#### **1.4.2 Essais d'immunisation (GYIMAH, 1986)**

A côté des vaccins classiques utilisant des bactéries entières inactivées appartenant aux sérogroupes majoritaires, divers essais d'immunisation ont été effectués, basés sur l'utilisation des facteurs de virulence comme antigènes.

L'immunogénétique de la bactérie entière *E. coli* a été étudiée chez le poulet. Les poulets vaccinés contre la souche homologue sont protégés contre les infections respiratoires et éliminent mieux les *E. coli* de leurs tissus que les poulets non vaccinés. Néanmoins la cellule bactérienne entière d' *E. coli* ne procure pas de protection croisée contre d'autres souches pathogènes (Huang.H., 1999)

L'utilisation de fimbriae purifiés comme antigènes vaccinant a montré que l'efficacité de cette méthode était limitée par la variabilité antigénique de la fimbrilline (GYIMAH et al, 1986). La protection des poulets vaccinés se traduit par une mortalité plus faible, des lésions bénignes et une élimination plus efficace des bactéries. La protection est meilleure lorsque les pili de plusieurs sérotypes sont combinés dans un vaccin multivalent

Les protections offertes par la cellule entière et par les pili sont donc comparables.

L'immunisation passive de dindes avec des anticorps dirigés contre les protéines de la membrane externe régulées par le fer a résulté elle aussi en une protection partielle (BOLIN et JENSEN, 1987).



Une étude menée par DESMETTRE (1982) montre que l'immunité de reproductrices ayant reçu un vaccin à bactéries inactivées associé antipasteurellique et anticolibacillaire en adjuvant huileux se transmet passivement aux poussins et persiste chez eux environ 3 semaines. Elle augmente leur résistance à un stade où ils sont particulièrement sensibles.

Actuellement, des essais de protection des poussins par immunisation de reproductrices contre l'aérobactine sont en cours.

14

## **2. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE**

*E. coli* colonise le tractus digestif, notamment le colon, des animaux à une concentration bactérienne d'environ  $10^6$  / g Sa présence dans la litière et l'eau de boisson indique une contamination d'origine fécale.

### **2.1 CONTAMINATION DES INDIVIDUS**

Parmi des poulets sains, 10 à 15 % des colibacilles intestinaux correspondent à des sérotypes potentiellement pathogènes. Cependant sur un même oiseau, les souches intestinales ne sont pas nécessairement du même sérotype que celles isolées du sac péricardique et responsables des lésions de colibacillose.

La contamination de l'œuf par les *E. coli* pathogènes peut être responsable d'une mortalité élevée des poussins. La plus importante source de contamination des œufs semble être la contamination fécale de la surface de l'œuf suivie du passage des bactéries au travers de la coquille puis des membranes. Cependant les colibacilles pathogènes sont plus fréquents au niveau de l'intestin des poussins nouvellement éclos que dans les œufs, ce qui suggère une diffusion rapide après l'éclosion.

### **2.2 TAUX D'INFECTION (CLOUD et coll., 1985)**

Environ 50 % des *E. coli* isolées sur des poulets de chair âgés de 2 à 8 semaines sont associées à une atteinte des sacs aériens.

Seul un petit nombre de souche d' *E. coli* est identifié. De nombreux colibacilles sont en effet non sérotypables. Il s'agit le plus souvent de souches non pathogènes. Cloud (1985) a étudié la non sérotypie des *E. coli* à partir de 197 isollements:

- 30,5 % des antigènes O sont non identifiés;
- 63,5 % des antigènes K sont non identifiés;
- 33,5 % des antigènes H sont non identifiés (41,6 % des souches sont non mobiles et ne possèdent pas d'antigènes flagellaires).

15

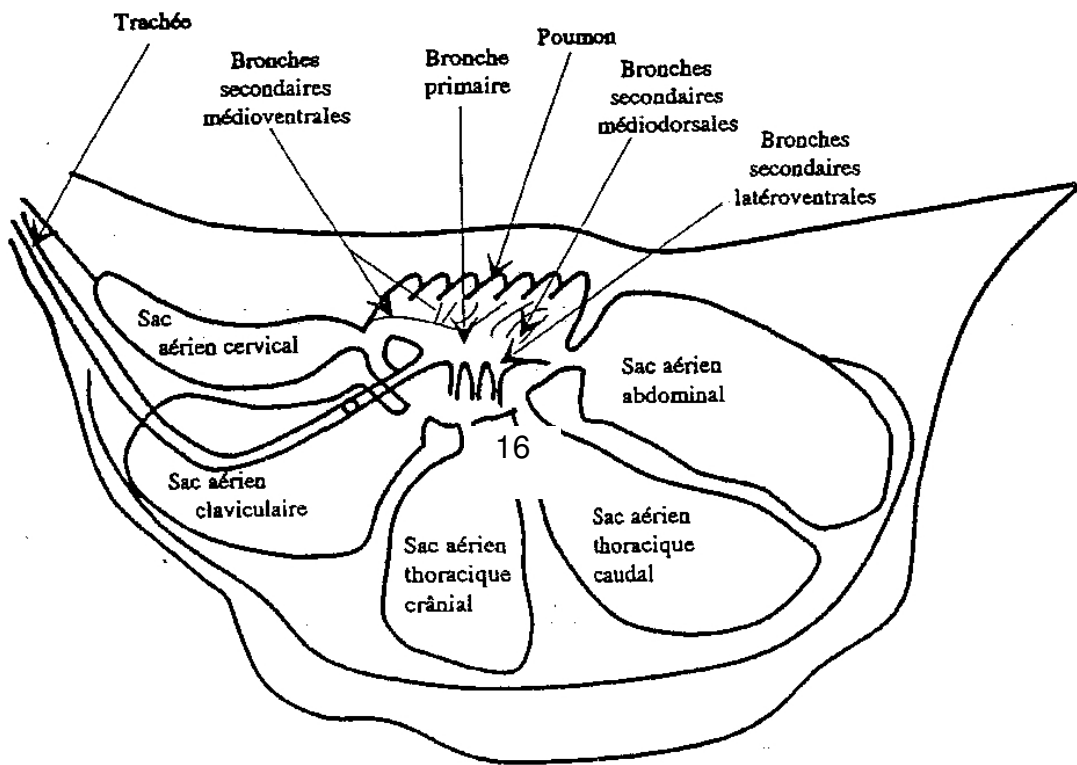
Alors que classiquement les sérotypes prédominants en colibacillose aviaire sont O1, O2 et O78, Cloud (1985) a mis en évidence l'émergence du sérotype O<sub>35</sub> (8,5 % des prélèvements sur poulets de chair âgés de 2 à 8 semaines). Il n'y a par contre pas de sérotype prédominant dans les isolats obtenus à partir des sacs vitellins des poussins sains, mais 50 % de ces colibacilles sont non sérotypables.

### **2.3 VOIES D'ENTREE ET MODES DE TRANSMISSION**

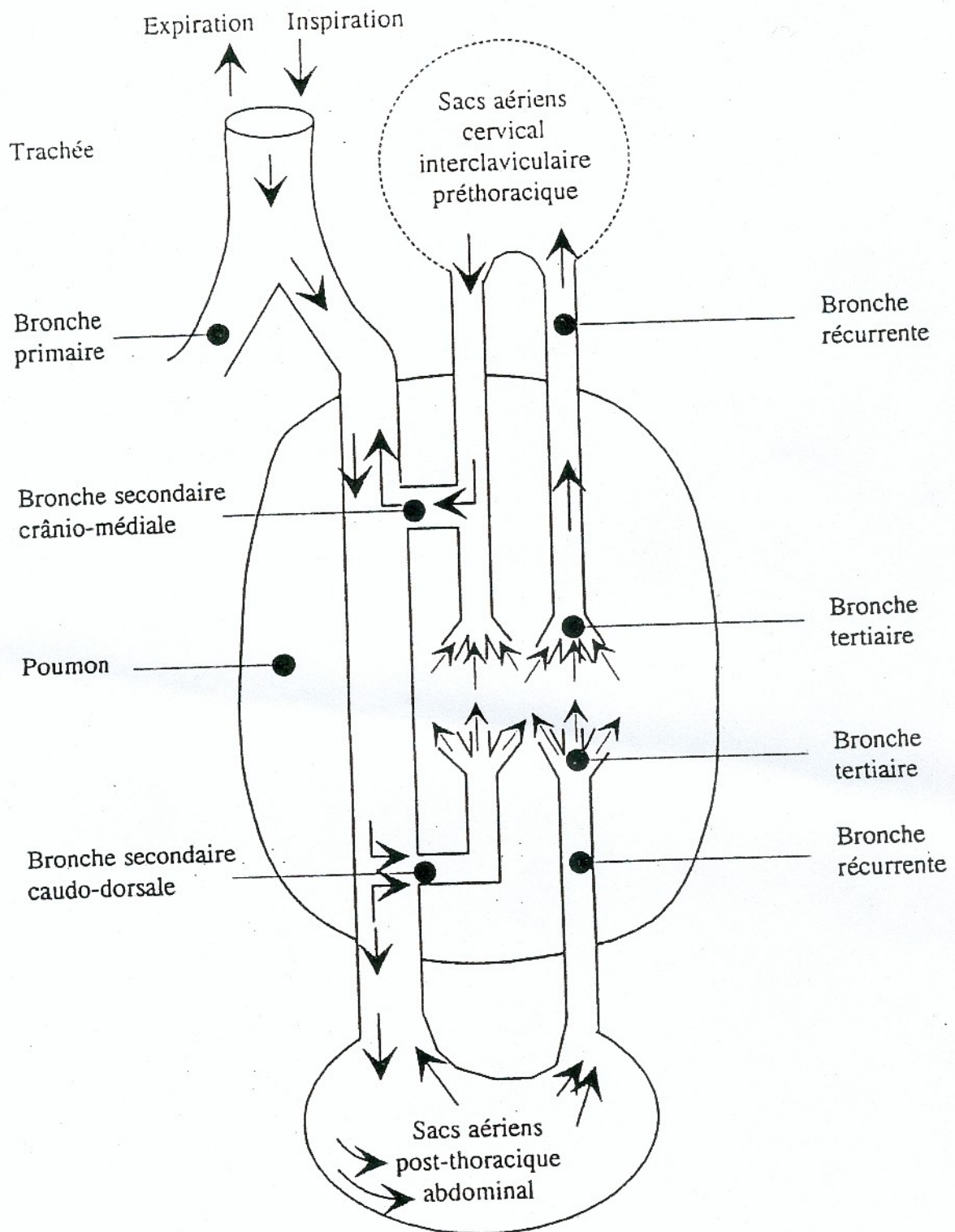
Il est généralement admis que la principale voie de contamination est le tractus respiratoire supérieur ou le pharynx. La contamination se fait alors à partir des particules de plumes ou de duvet, et de la poussière des litières. En effet suite à la contamination fécale, la poussière des poulaillers peut alors renfermer  $10^5$  à  $10^6$  *E. coli*/go (Oyetunde.,1978)

En raison des caractères anatomophysiologiques des oiseaux 5 (Figure 1) plus de 80% des particules inhalées atteignent le sac aérien abdominal. Une faible part de l'air inspiré pénètre dans le poumon tandis qu'il arrive majoritairement directement dans les sacs aériens postérieurs (Figure 2). Les germes pathogènes peuvent donc être déposés en grand nombre au contact directe des organes profonds En effet les moyens de défense anti-infectieux propres aux sacs aériens sont très limités, ce qui explique la fréquence et la gravité des aérosacculites, des infections respiratoires profondes et l'influence déterminante des conditions environnementales sur l'épidémiologie de la colibacillose maladie respiratoire chronique (LECOANET, 1992).

La forme génitale de l'infection fait souvent suite à la localisation respiratoire, ovaire et oviducte se contaminant par voie descendante au contact du sac aérien abdominal gauche (LECOANET, 1992).



**Figure 1** : Disposition des sacs aériens (vue latérale)



**Figure 2 :** Représentation du trajet des gaz à l'inspiration et à l'expiration

L'entrée des bactéries peut aussi avoir lieu depuis le tractus digestif (Gross., 1994, Dho Moulin et fairbrother., 1999). Le colon et les cæca des poulets adultes contiennent entre  $10^6$  et  $10^9$  CFU d' *E. coli* par centimètre d'intestin ou  $10^5$  à  $10^7$  CFU/g d'intestin. Cependant la microflore intestinale normale des poulets gêne le développement d'autres bactéries par compétition des nutriments et des récepteurs communs. Elle réduit ainsi la colonisation du tractus digestif par les *E. coli* pathogènes et les salmonelles, et limite le passage d' *E. coli* pathogènes depuis l'intestin au système circulatoire.

La flore intestinale intervient aussi par la production de colicines. Les colicines sont des protéines bactéricides, entre 50 et 80 kilodaltons, produites par les *E. coli* et les autres entérobactéries. Environ 20 colicines différentes ont été mises en évidence, ayant toutes une action contre *E. coli* ou des bactéries étroitement apparentées (WOOLEY, 1994).

L'infection peut se transmettre verticalement par les œufs, cas le plus rare, lors d'infection du tractus génital. Le plus souvent elle se transmet à l'œuf horizontalement, par les coquilles d'œufs souillées de fèces lors du passage dans le cloaque ou en tombant sur une litière sale. A l'éclosion les bactéries emprisonnées lors du séchage de la cuticule sont alors restituées sous forme d'aérosol. Ou par le biais de vecteurs animés ou inanimés (LECOANET, 1992, Gross., 1994, Dho Moulin et fairbrother., 1999, Jordan et Patisson., 1996).

Les déjections des rongeurs contiennent souvent des colibacilles pathogènes. D'autre part, les sérotypes pathogènes peuvent aussi être introduits dans les élevages par de l'eau contaminée (GROSS, 1991)

## **2.4 INFLUENCE DE DIFFERENTS PARAMETRES** (sexe, âge, race, condition d'élevage)

L'intervention unique du colibacille en pathologie aviaire est rare et n'est le fait que de souches très virulentes. Les jeunes sont plus sensibles aux maladies colibacillaires en raison d'un système immunitaire immature et d'une flore intestinale incomplète ne remplissant pas son rôle de barrière.

A l'état adulte, la colisepticémie est souvent associée à une infection virale telle que la

bronchite infectieuse, la rhinotrachéite aviaire chez la dinde, la maladie de Newcastle et la laryngotrachéite infectieuse. Elle peut aussi accompagner une infection par *Mycoplasma gallisepticum* ou *synoviae*.

Les rôles respectifs du colibacille et de ses auxiliaires sont souvent difficiles à préciser, ne serait-ce que sur le plan chronologique. Il est admis que mycoplasmes et virus font sortir secondairement une colibacillose, à la faveur d'une immunodépression transitoire (maladie de Gumboro ou de Marek par exemple) mais *E. coli* est lui-même immunodépresseur (LECOANET, 1992). En effet une immunodépression transitoire peut apparaître chez les poulets infectés jusqu'à 14 jours après l'inoculation et les rendre beaucoup plus sensibles à d'autres infections et d'autres stress (NAKAMURA et coll., 1986).

De plus les conditions d'élevage ne sont pas à négliger. En effet, un taux élevé d'ammoniac, produit par la décomposition microbienne de l'acide urique dans les fientes des volailles, favorise l'entrée des colibacilles par les voies respiratoires en les fragilisant.

D'autres facteurs d'environnement peuvent aussi intervenir tels que la surdensité, une mauvaise ventilation, un déficit ou un déséquilibre alimentaire, une mauvaise qualité de litière (humidité) et toute manipulation stressante telle que l'administration d'un vaccin vivant par voie respiratoire (vaccins contre la bronchite infectieuse, la rhinotrachéite aviaire et la maladie de Newcastle).

Ainsi la maladie colibacillaire est souvent le résultat de fautes d'élevage plus ou moins aggravées par l'intervention d'agents infectieux. Par exemple une eau de boisson de mauvaise qualité, responsable d'entérite, peut déclencher une diarrhée humidifiant la litière. Les fientes fermentent ce qui produit un dégagement d'ammoniac. L'appareil respiratoire est alors irrité et le développement de maladies respiratoires est favorisé en présence de colibacilles (VILLATE, 1997).

Cependant dans le cadre d'élevage industriel la socialisation des volailles à l'homme joue un rôle important sur leur résistance à l'infection bactérienne.

Les pertes dues à la colibacillose représentent un coût économique du non seulement aux mortalités mais aussi aux contre-performances économiques des lots infectés et aux différents troubles de la reproduction (chute de l'éclosabilité, augmentation de la mortalité en coquille ou en boîte les premiers jours).

### **3 EXPRESSIONS CLINIQUES DE L'INFECTION SPONTANEE**

Contrairement à ce qui se passe chez les mammifères, *E. coli*, chez les volailles, n'est qu'assez peu impliqué en pathologie digestive mais participe à des syndromes variés évoluant sous forme septicémique ou localisée: maladie respiratoire chronique, omphalite, synovite, salpingite, coligranulomatose (LECOANET, 1992). Ces infections extra intestinales, systémiques sont dues aux propriétés invasives des souches en causes bien que la dissémination des bactéries se fasse le plus souvent à partir du système respiratoire (DHO- MOULIN, 1993)

Les manifestations cliniques diffèrent suivant l'âge de l'animal.

#### **3.1 LES COLIBACILLOSES RESPIRATOIRES ET LA COLISEPTICEMIE**

La colibacillose respiratoire et la colisepticémie représentent une dominante pathologique chez les poulets de chair élevés industriellement.

Elles se présentent souvent chez les animaux de 6 à 10 semaines comme une complication d'une infection mycoplasmique ou virale (virus de la bronchite infectieuse IBV, virus de la maladie de Newcastle NDV dont les souches vaccinales) survenue dans les deux ou trois premières semaines de vie, les conditions d'ambiance jouant un rôle déterminant dans l'apparition et la gravité du processus (LECOANET, 1992).

L'infection naturelle de l'appareil respiratoire des volailles par *E. coli* semble se produire lors d'inhalation de poussières contaminées par les fientes. Le lieu précis où les *E. coli* se déposent au niveau du tractus respiratoire n'est pas connu.

Pour éliminer les particules inhalées, les poumons des oiseaux dépendent

principalement de la phagocytose par les cellules épithéliales de la zone des parabronches. Ils ne possèdent pas de défense cellulaire similaire aux macrophages alvéolaires des mammifères au niveau de la zone d'échange des gaz.

D'autre part il n'y a aucun mécanisme de défense cellulaire au niveau des sacs aériens et leur protection dépend de l'afflux de polynucléaires hétérophiles lors de l'inflammation.

Ainsi, les régions d'échanges gazeux entre le poumon et les sacs aériens sont relativement sensibles à la pénétration et à la multiplication des bactéries. La zone des capillaires aériens du poumon est alors un important site d'entrée des *E. coli* dans le système circulatoire des oiseaux (POURBAKHS et coll., 1997 b).

### **3.1.1 La maladie respiratoire chronique**

L'inhalation de poussière contaminée par les coliformes est la plus importante source d'infection des sacs aériens. L'exposition à la poussière et à l'ammoniac entraîne la déciliation du tractus respiratoire supérieur des oiseaux. Ensuite les voies respiratoires non indemnes deviennent très sensibles à l'invasion d' *E. coli* ce qui permet aux *E. coli* inhalées d'infecter les sacs aériens (GROSS, 1991, Monroe et all., 2003).

La maladie résultante est communément appelée maladie des sacs aériens ou maladie respiratoire chronique. La maladie des sacs aériens apparaît principalement chez les poulets âgés de 5 à 12 semaines avec un pic entre 6-9 semaines.

Les oiseaux malades sont prostrés, anorexiques et présentent des symptômes respiratoires non spécifiques (éternuements, râles, toux, jetage, larmolements, sinusite). L'extension de l'infection (aérosacculite) provoque des lésions fibrineuses des séreuses (péricardite et une péri hépatite). Plus rarement une panophtalmie, une salpingite, et des infections des os et des structures synoviales peuvent apparaître après une septicémie.

La morbidité dépasse souvent 20% et la mortalité reste inférieure à 5% sauf complications (Salvadori et all., 2001).





**Photo 01** : Péricardite, et périhépatite lors d'une colibacillose aviaire

(Villate., 2001)

Les formes subcliniques provoquent une diminution de la prise alimentaire et les conséquences de la maladie sont surtout d'ordre économique et condamnent les oiseaux à l'abattage (GROSS, 1991 et LECOANET, 1992).

### **3.1.2 Le syndrome de la grosse tête**

La rhinotrachéite infectieuse de la dinde (RTI) est une affection respiratoire aiguë observée pour la première fois en Afrique du Sud au début des années 70.

La maladie affecte les dindes de tout âge et les signes cliniques caractéristiques sont des jetages nasal et oculaire intenses et un œdème sous-cutané d'abord périorbitaire puis qui s'étend à la face et à la région sous mandibulaire .

La RTI est causée par un pneumo virus, le virus de la trachéite de la dinde (RTN). Or ce virus a aussi été étroitement associé à la maladie des poulets appelée syndrome infectieux du gonflement de la tête (SIGT). Les troubles respiratoires sont plus discrets et le gonflement de la tête prédominant. Ce syndrome a été décrit pour la première fois en 1978 en Afrique du Sud, puis dans de nombreux autres pays et montre de grandes similitudes avec la rhinotrachéite infectieuse de la dinde.

L'hypothèse d'une relation entre le virus de la rhinotrachéite de la dinde et le syndrome de la grosse tête a été évoqué suite à la mise en évidence d'anticorps contre le virus RTIV chez des poulets présentant les signes cliniques du syndrome de la grosse tête. Plus tard le virus RTIV a été isolé de débuts de SIGT. Il semblait logique que le virus RTIV soit la cause du SIGT mais l'inoculation expérimentale de RTIV à des poulets n'a pas donné de résultats satisfaisants.

Ensuite l'hypothèse d'une double infection causée par le virus RTIV et une ou plusieurs espèces bactériennes a été généralisée. Deux faits sont en faveur de cette hypothèse:

- Les études microbiologiques des cas de SIGT montrent la présence de plusieurs bactéries, principalement *E. coli*, associées à RTIV.
- Des études d'inoculation expérimentale de RTIV chez le poulet suggèrent que les lésions observées sur l'épithélium respiratoire de la cavité nasale pourraient favoriser la colonisation de cet épithélium par un second agent responsable des signes cliniques de SIGT (MAJO et coll, 1997)

De même on a pu reproduire la maladie de façon expérimentale. Après des injections intrapéritonéales répétées d' *E. coli* ou du mélange coronavirus- *E. coli*, (le coronavirus étant l'agent de la bronchite infectieuse) *E. coli* a été isolée à partir d'œdème de la tête de poulets de chair provoqué par l'altération des capillaires (GROSS, 1991).

### **3.1.3 La colisepticémie**

*E. coli* est isolée d'une maladie infectieuse intense ressemblant à la fièvre typhoïde et au choléra chez des poulets et des dindes adultes.

Les oiseaux affectés sont en bon état général et ont le jabot plein, ce qui indique la nature aiguë de l'infection. Les lésions les plus caractéristiques sont un foie vert et des muscles pectoraux congestionnés. Parfois de petits points blancs sur le foie sont décrits. Lors d'une colisepticémie moins virulente, il y a une tendance à développer une péricardite et une péritonite (Jeffrey et all., 2002).



**Photo 02** : Colisepticémie : carcasse rouge, foie dégénéré et aspect luisant

(Villate., 2001)

La plupart des *E. coli* sont responsables de péricardite après une phase de septicémie. La péricardite est habituellement associée à une myocardite qui entraîne des changements sensibles au niveau de l'électrocardiogramme, souvent avant que les lésions macroscopiques n'apparaissent. Le sac péricardique devient trouble et l'épicarde devient oedémateux et recouvert d'un exsudat coloré. Le sac péricardique est souvent rempli d'un exsudat fibrineux jaunâtre. L'association péricardite myocardite entraîne une baisse de la pression sanguine au niveau de l'artère carotide de 150 à 40 mm de mercure juste avant la mort.

### **3.2 MORTALITE EMBRYONNAIRE ET MORTINATALITE**

Des poules inoculées expérimentalement peuvent excréter des *E. coli* dans plus de 26 % de leurs œufs alors que 0,5 à 6 % des œufs d'une poule saine renferment des *E. coli*. En effet la bactérie peut occasionnellement être isolée de vitellus d'apparence normal. Dans cette pathologie on peut considérer que celle-ci est l'agent primaire de l'infection (Gross., 1994 Jordan et Patisson., 1996, Dho Moulin et Fairbrother., 1999).

La contamination fécale est la source d'infection des œufs la plus importante. Les

autres sources, plus rare, sont les infections ovariennes ou les salpingites.

En raison du gradient de température, les micro-organismes sont aspirés à travers la coquille poreuse, tandis que d'autres peuvent pénétrer de façon active en faveur de l'humidité de la surface de la coquille (BAINS, 1979).

Le lieu de l'infection est le vitellus de l'embryon. De nombreux embryons meurent avant l'éclosion, particulièrement en fin d'incubation. Ensuite l'incidence de l'infection augmente peu après l'éclosion et se réduit après 6 jours: quelques uns meurent peu après l'éclosion et la perte de poussins continuent jusqu'à l'âge de 3 semaines.

Les poulets éclos d'œufs contaminés par *E. coli* présentent souvent une inflammation de l'ombilic (omphalite), cause de mortalité.



**Photo 03** :Omphalite sur un poussin ( abdomen distendu) (VILLATE, 2001)

Les poulets ou la volaille survivant plus de 4 jours peuvent présenter une péricardite, preuve de la diffusion systémique depuis le sac vitellin. Mais il est possible de n'avoir aucune mortalité, les seules manifestations de l'infection du vitellus étant la rétention du sac infecté et la réduction du gain de poids (GROSS, 1991). Suite à l'infection par *E. coli* le contenu normal du sac vitellin (visqueux, jaune-vert) change pour devenir plus liquide, marron jaune voire caséux.

La réaction microscopique au niveau de l'enveloppe semble bénigne. L'enveloppe est œdémateuse, Il y a une zone externe de tissu connectif, puis une couche de cellules inflammatoires (polynucléaires hétérophiles et macrophages), une couche de cellules

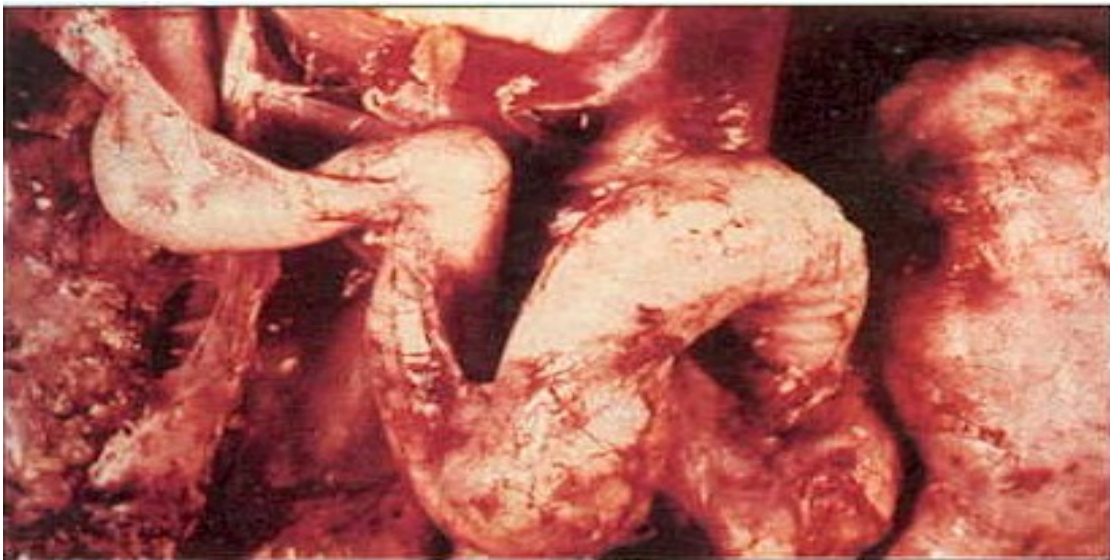
géantes, une zone nécrotique (polynucléaires hétérophiles et bactéries), et ensuite le contenu . Infecté du sac vitellin (GROSS, 1991).

Il est possible de reproduire ces pathologies par trempage de l'œuf dans une culture d' *E. coli* ou en injectant *E. coli* directement dans le sac vitellin. Dans ce dernier cas une dizaine de bactéries suffisent à provoquer 100 % de mortalité (DHO-MOULIN, 1993).

### **3.3 OVARITES ET SALPINGITES CHRONIQUES CHEZ L'ADULTE (GROSS, 1991 ET LECOANET, 1992)**

Les formes génitales observées chez les poulettes de 4 à 13 semaines ou chez les adultes accompagnent ou non les manifestations respiratoires et se traduisent par des chutes de ponte survenant en particulier au 2-3<sup>ème</sup> mois de ponte, des morts subites (2 à 3% par mois) ou des diarrhées blanches.

L'autopsie révèle des lésions d'ovario-salpingite et de péritonite.



**Photo 04:** Salpingite colibacillaire de la poule, l'utérus contient un boudin caséux

(Villate., 2001)

Quand le sac abdominal gauche est infecté par *E. coli*, de nombreuses femelles développent une salpingite chronique caractérisée par une importante masse caséuse au niveau d'une zone dilatée de l'oviducte à paroi amincie . La masse caséuse contient



de nombreux polynucléaires hétérophiles nécrotiques et des bactéries qui persistent pendant plusieurs mois. La taille de la masse caséuse peut augmenter avec le temps. Les salpingites peuvent aussi apparaître suite à l'entrée de coliformes par le cloaque chez les poules pondeuses.

Une péritonite, caractérisée par une mortalité intense, de la fibrine et la présence d'un jaune libre dans la cavité abdominale, sont observés parfois suite à la ponte intra abdominale d'un ovule infecté.

Les oiseaux infectés meurent fréquemment au cours des 6 premiers mois suivant l'infection; les survivantes pondent rarement des œufs.

Cette forme génitale de l'infection provoque chez le poussin des mortalités embryonnaires (15 à 20%), des mortalités en coquille (3 à 5%) et des mortinatalités (10 à 20%). Les lésions peuvent évoquer celle de la pullorose :

- Omphalite et rétention du sac vitellin;
- Foyers de nécrose hépatique;
- Arthrite ;
- Péritonite.

L'infection peut être reproduite par l'injection de doses importantes de bactéries ( $10^9$ ) dans l'utérus ou l'oviducte. Cependant une activité œstrogénique importante semble être associée à la croissance des coliformes dans l'oviducte.

### **3.4 FORMES PLUS RARES**

#### **3.4.1 Infection synoviale (GROSS, 1991)**

*E. coli* a été isolée d'articulations de poulets. Cette infection synoviale est souvent le témoin d'une septicémie.

De nombreux oiseaux guérissent au bout d'une semaine, tandis que les autres développent une infection chronique et peuvent devenir décharné.

Les lésions peuvent être reproduites suite à l'inoculation par voie intraveineuse d'un bouillon de culture de certains isolements.

### **3.4.2 La panophtalmie (GROSS, 1991)**

La panophtalmie est une manifestation peu commune de la colisepticémie. Elle se traduit par un hypopyon, habituellement sur un œil qui devient aveugle. La plupart des oiseaux meurent peu de temps après le début des lésions.

Microscopiquement il y a des infiltrations de polynucléaires hétérophiles et de macrophages dans l'œil, et on retrouve des cellules géantes autour des zones nécrotiques. La choroïde devient hyperémique et la rétine est complètement détruite.

### **3.4.3 La coligranulomatose ou maladie de Hjarre (GROSS, 1991) :**

La coligranulomatose est une forme de colibacillose devenue relativement rare. Néanmoins la mortalité peut atteindre plus de 75 %.

Elle est caractérisée par l'apparition de multiples petites formations nodulaires sur l'intestin grêle, les caeca, le mésentère et le foie.

Il n'y a pas atteinte de la rate ce qui facilite le diagnostic différentiel avec la tuberculose.

Les lésions séreuses peuvent ressembler à celle de la leucose. Il y a confluence de zones nécrotiques sur la moitié du foie. Seuls quelques polynucléaires hétérophiles dispersés sont visibles et à la frontière des zones nécrotiques il y a peu de cellules géantes.

### **3.4.4 Entérite**

*E. coli* a été isolée chez des volailles lors d'entérites mais les recherches ne sont pas suffisantes pour indiquer qu'il s'agit de l'étiologie. L'infection du tractus digestif par *E. coli* est habituellement secondaire à d'autres affections du type coccidiose, entérite nécrotique,

Histomonose, parasitisme (vers ou champignons), ou suite à des circonstances débilitantes telle la malnutrition (Pakpinyo S et al., 2002).

Les lésions observées correspondent à une inflammation sévère de l'intestin, de larges plaques épaissies et oedémateuses contenant du sang et du mucus.

Les poulets atteints présentent une diarrhée, différents degrés de déshydratation et une baisse rapide de l'état général (BAINS, 1979).

Expérimentalement, donner un mélange d'<sup>29</sup> *E. coli* et d' *Eimeria brunetti* à des poulets par voie orale entraîne une sérieuse entérite hémorragique (NAGI et MATHEY, 1972).

### 3.4.5 La dermatite à *E. coli*

Elle est rapportée pour la première fois par (Randall en 1984) en Angleterre.

C'est une maladie de surpeuplement et de mauvaise hygiène, associée à des problèmes de santé dans les élevages. D'ailleurs les élevages ayant peu de problèmes de santé ont aussi peu de saisies causées par la dermatite nécrotique.

*E. coli* est la cause prédominante de ces lésions bien que d'autres agents tels que *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter agglomerans*, *Proteus Vulgaris* et *Streptococcus dysgalactiae* ont aussi été isolés (GOMIS et coll., 1997).

Il s'agit d'une dermatite nécrotique, issue d'un processus infectieux ou inflammatoire entraînant un exsudat inflammatoire du tissu sous-cutané, généralement localisé au niveau inférieur de l'abdomen et sur les cuisses des poulets de chair.

Aucun signe clinique n'est associé à cette dermatite mais la présence de ces lésions entraîne une saisie d'une partie ou de la totalité de la carcasse.

Les souches d' *E. coli* responsables de dermatite nécrotique possèdent des similitudes au niveau phénotype et génotype avec les souches entraînant une infection généralisée. La majorité de ces souches (75%) appartient aux clones A1, B1, B3 et D renfermant aussi les souches responsables de colibacillose aviaire et du syndrome infectieux du gonflement de la tête. O25 et O78 sont fréquemment isolés mais la majorité des isollements sont non sérotypables. Le sérotype O78, un des sérotypes les plus fréquents lors de colibacillose aviaire, a les caractéristiques des souches correspondant au clone B3. Ce clone a d'abord été fréquemment isolé à partir de dindes présentant une septicémie.

Les souches responsables de dermatites sont caractérisées, comme les *E. coli* causant une infection généralisée chez les volailles, par la production de colicine V et d'aérobactine. (MUSANGU et coll., 1996)

Il est possible de reproduire cette dermatite en altérant la surface cutanée et en y appliquant des souches virulentes de O78 et O2, (GOMIS et coll., 1997).



### 4.1 DIAGNOSTIC CLINIQUE ET LESIONNEL

On suspectera une colibacillose lors d'omphalite chez les jeunes ou suite à l'apparition de salpingite ou de la forme respiratoire chez les adultes.

Les lésions observées dans le cas de colibacillose spontanée peuvent être regroupées en deux groupes, une septicémie aiguë et une inflammation subaiguë des séreuses.

En effet les lésions diffèrent selon l'âge du poulet: les oiseaux les plus jeunes ayant une faible résistance à l'infection, souffrent d'une septicémie aiguë et meurent de façon fulgurante, tandis que les plus âgés, plus résistants, survivent aux premières lésions de septicémie. Ils présentent alors des lésions des séreuses résultant du développement important des bactéries au niveau de ces tissus.

En cas d'atteinte subaiguë les poulets peuvent présenter l'association de ces deux types de lésions mais meurent probablement de la septicémie (NAKAMURA et coll., 1986). La plupart des poulets présentant une inflammation subaiguë ont des lésions au niveau du foie et de la rate semblables à celles retrouvées chez les plus jeunes poulets affectés d'une septicémie aiguë.

L'atteinte respiratoire entraîne des lésions des sacs respiratoires qui apparaissent épaissis et souvent recouverts d'un exsudat caséux. Microscopiquement les premiers changements consistent en un œdème et une infiltration d'hétérophiles. Les macrophages sont fréquemment vus 12 heures après l'inoculation. Plus tard ils sont très nombreux avec des cellules géantes sur les bords des zones nécrotiques. Il y a une prolifération de fibroblastes et une accumulation d'un grand nombre de polynucléaires hétérophiles nécrotiques dans l'exsudat caséux. On retrouve les lésions classiques des maladies respiratoires telles que l'atteinte des follicules lymphoïdes, l'hyperplasie de l'épithélium respiratoire, et la perte de l'étanchéité de certaines zones de cet épithélium.

(GROSS, 1991)

La clinique et l'autopsie des oiseaux malades ne permettent qu'une suspicion de la maladie

Les lésions observées ne sont pas spécifiques d'une infection par *E. coli*. D'autres agents peuvent être responsables de lésions similaires. Voici un inventaire des agents pouvant être isolés lors du développement des différentes lésions:

- Arthrite: *virus, mycoplasmes, staphylocoques, salmonelles, Streptobacillus moniliformis*, et autres.
- Atteinte du sac vitellin : *Aerobacter spp., Klebsiella spp., Proteus spp., salmonelles, Bacillus spp., staphylocoques, entérocoques, clostridies*.
- Péricardites: *Chlamydia. Pasteurella*
- Péritonite: *Pasteurella, streptocoque*.
- Aérosacculite : autres bactéries, *mycoplasmes, chlamydia*.
- Septicémie : *Pasteurella, salmonelle, streptocoque* et autres.
- Nodules sur le foie: bactéries anaérobies du genre *Eubacterium et Bacteroides* (Gross., 1994).

L'autopsie ne permet que d'observer les différents types de lésions mais seule la bactériologie précise l'agent responsable avec certitude.

### 4.3 ANALYSE DU LABORATOIRE

Le diagnostic de la colibacillose est essentiellement expérimental.

L'examen bactériologique ne pose pas d'autres problèmes que ceux rencontrés habituellement lors d'analyses expérimentales. Le choix des individus est important car ceux-ci doivent être représentatifs de l'affection sévissant dans l'effectif atteint. Il est préférable d'examiner quelques morts, quelques malades ainsi que quelques sujets apparemment sains. Au moment des prélèvements il est essentiel d'éviter la contamination fécale des échantillons de culture. Ces prélèvements devront être conservés sous couvert du froid jusqu'au moment de l'analyse. L'interprétation des résultats s'appuiera sur l'étude des commémoratifs. C'est important de connaître la nature des traitements antérieurs et de savoir si des autopsies ont été pratiquées sur le terrain.

Après mise en culture sur un milieu approprié un diagnostic présomptif d'infection par *E. coli* peut être fait si la plupart des colonies apparaissent sombres avec des reflets métalliques sur gélose EMB (éosine bleu de 32<sup>e</sup> ylène), ou roses vifs avec un précipité sur la gélose Mac Conkey. Les colibacilles sont ensuite mis en évidence par croissance sur galerie qui donne les caractéristiques de l'agent isolé.

En revanche l'identification du sérotype et plus encore la recherche des facteurs de pathogénicité ne sont à la portée que de laboratoires spécialisés.

Une nouvelle technique a été élaborée permettant le diagnostic rapide d'une colibacillose. Le principe consiste à révéler l'activité des déshydrogénases bactériennes à l'aide d'un substrat chromogène ou de la glucuronidase d' *E. coli* à l'aide d'un substrat fluorogène inclus dans le milieu de culture. L'intérêt de cette méthode est de permettre un diagnostic précoce de colibacillose en 2 à 4 heures et de gagner 24 heures sur le résultat de l'antibiogramme. Ce test est simple d'emploi et pratique. Les résultats concordent à 85 % avec ceux obtenus par la méthode usuelle (CONTANT et al., 1997). Lors d'investigations épidémiologiques on utilise des techniques beaucoup plus compliquées telle que l'identification antigénique. En effet avec les progrès de la biologie moléculaire, il est possible de rechercher non plus les produits des gènes mais les gènes eux-mêmes par hybridation des acides nucléiques, au lieu de chercher telle enzyme, tel antigène, telle toxine Cette technique est utilisée en humaine et pour le diagnostic des diarrhées du veau et du porcelet et en volaille lors d'études épidémiologiques (KAECKENBEECK, 1993).

#### **4.4 INTERPRETATION DES RESULTATS**

La signification clinique d'un isolement d' *E. coli* n'est pas toujours facile. Nous avons vu que des lésions similaires peuvent être causées par d'autres micro-organismes. D'autre part, *E. coli* est un hôte habituel du tube digestif des volailles. L'animal sain peut donc héberger à la fois des souches pathogènes et des souches saprophytes d' *E. coli*. Cependant plusieurs propriétés microbiologiques permettent de distinguer les souches pathogènes et non pathogènes d' *E. coli*.

La sérotypie est le critère le plus utilisé en diagnostic puisque 60 % des souches isolées de prélèvements pathologiques appartiennent à seulement trois sérogroupes O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub> et O<sub>78</sub> (DHO MOULIN, 1993).

La synthèse d'une colicine de type V est observée chez 78 à 88 % des souches d' *E. coli* isolées de prélèvements pathologiques. Le support génétique de cette propriété est un plasmide col V, qui code également pour des facteurs de virulence (DRO-MOULIN, 1993).

Il a été récemment démontré que la fermentation du durcitol, de la salicine d'abord associée à la virulence dans des études épidémiologiques, sont davantage liées au sérotypage. C'est par exemple le cas de la fermentation de l'adonitol par les souches O35, responsables de nombreux cas de colibacillose dans l'état du Delaware (Etats-Unis) entre 1981 et 1983.

Le classement des souches d' *E. coli* sur la base de leur profil iso enzymatique permet d'obtenir des indications sur leurs relations génétiques (relations clonales). Ainsi des souches d' *E. coli* aviaires isolées de différents pays et à plusieurs années d'intervalle peuvent être génétiquement très proches et appartenir à un même clone (WHITE et coll., 1990 et DHOMOULIN, 1993). Dans son étude sur 45 souches d' *E. coli* aviaires, publiée en 1993, WHITE montre que 83 % des souches pathogènes appartiennent à seulement 5 clones, alors qu'à chacune des 10 souches non pathogènes correspond un clone différent (DHO-MOULIN, 1993). Le groupe D, décrit par WHITE et coll. (1990), regroupe des clones génétiquement très proches, isolés aussi bien de colibacillose aviaire que de septicémies et méningites humaines, laissant supposer qu'il pourrait exister des pathovars communs à l'homme et au poulet (DHO-MOULIN, 1993).

#### **4.5 TRAITEMENT**

A l'heure actuelle, celui-ci repose encore essentiellement sur l'antibiothérapie. Les antibiotiques les plus utilisés sont les sulfamidés, les bétalactamines, et les quinolones. Toutefois, il faut rester prudent quant à l'utilisation des antibiotiques car de récentes études menées sur une collection de 1600 souches EPEC ont montré que le nombre de souches résistantes à ces divers antibiotiques allait en s'accroissant; il est donc plus que jamais nécessaire de réaliser un antibiogramme avant ou en parallèle au traitement.

#### **4.6 PRÉVENTION**

Elle vise à contrôler les contaminations environnementales, les vecteurs animés ou inanimés, afin de réduire au maximum les facteurs prédisposants aux infections respiratoires. Une des méthodes consiste à réduire et à mieux contrôler les contaminations fécales par des sérogroupes <sup>34</sup> gènes par exemple, en réduisant la transmission des *E. coli* de la poule au poussin par une fumigation des oeufs dans les 2 heures qui suivent la ponte, en les récoltant le plus vite possible après la ponte et en écartant ceux en mauvais état ou présentant des souillures fécales à leur surface (Gross, 1994). Les infections du tractus respiratoire des animaux peuvent être réduites en garantissant des animaux indemnes de mycoplasmes et en contrôlant mieux certains facteurs environnementaux comme l'humidité, la ventilation, la teneur en poussière et en ammoniac dans l'air (Oyetunde *et al.*, 1978). Les rongeurs, les insectes parasites, coprophages, nécrophages sont aussi des réservoirs potentiels de colibacilles et doivent être systématiquement détruits.

La qualité de l'eau de boisson est aussi très importante, il faut dès lors veiller à la changer très régulièrement. Des mesures générales de séparation des animaux par classes d'âge et par espèce, de nettoyage, de désinfection et de vide sanitaire entre chaque lot sont aussi des mesures de prévention indispensables dans le cadre de la lutte contre la colibacillose (Jordan et Pattison, 1996). Enfin, les systèmes de vaccination employant la technique du spray/ nébulisation chez les poussins d'un jour ne sont peut être pas les méthodes les plus appropriées pour empêcher la propagation des colibacilles par voie aérienne.

#### **4.7 CONTRÔLE**

A l'heure actuelle, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire belge. Cependant, même si un certain nombre d'essais vaccinaux ont été effectués à l'aide de souches atténuées en modèles expérimentaux et couronnés de succès avec des souches homologues, ils n'en restent pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues de terrain (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999). De la même façon, une immunisation passive des jeunes animaux est satisfaisante, mais uniquement vis-à-vis de la souche homologue. Ceci n'est pas surprenant, étant donné l'énorme diversité que représentent les souches EPEC en matière de facteurs de virulence et le peu de données concrètes à leur sujet.

Afin de pouvoir comparer l'efficacité des différents traitements il serait intéressant

d'arriver dans un premier temps à standardiser la reproduction expérimentale de la maladie pour avoir des symptômes plus au moins proches de la maladie naturelle .

35

## **CHAPITRE II**

### ***STANDARDISATION DE LA MALADIE***

La mise au point d'un modèle de standardisation de la colibacillose aviaire répond à différentes exigences. Les symptômes reproduits doivent correspondre à ceux rencontrés sur le terrain. Quant à la morbidité et la mortalité, ces critères doivent être suffisamment marqués pour permettre ensuite de juger l'effet thérapeutique des anti-infectieux testés. Or la maladie reproduite dépend de plusieurs facteurs: la souche d' *E. coli* utilisée (sérotypage, dose), les poulets inoculés (souches, âge, poulets axéniques ou non) ainsi que de la voie d'inoculation utilisée (sous-cutanée, intramusculaire ou intratrachéale). D'autres facteurs sont aussi importants tels que les facteurs d'ambiance.

Chez les oiseaux comme chez les autres espèces animales, le pouvoir pathogène des *E. coli* est à déterminisme plurifactoriel. Les mécanismes et les modalités d'action des souches pathogènes de colibacilles aviaires sont encore imparfaitement connus et de nombreux agents (virus sauvages ou vaccinaux, autres bactéries ou mycoplasmes, aspergillose ...) peuvent agir en synergie avec les colibacilles. Ceci a incité de nombreuses équipes à utiliser des modèles expérimentaux de colibacillose associés à des viroses ou à d'autres infections.

## **1. FACTEURS LIÉS À LA SOUCHE INFLUENÇANT LA STANDARDISATION DE LA MALADIE**

Différents paramètres sont à définir lors de la mise au point du modèle d'inoculation d'un agent infectieux. En effet des tests préliminaires sont effectués pour déterminer la dose de l'agent à inoculer en fonction de la virulence de la souche choisie et de la voie d'inoculation. La virulence de la souche est déterminée en fonction des caractéristiques étudiées en laboratoire telles que l'adhérence *in vitro*, la production d'aérobactine, la résistance au sérum ou la fixation du Rouge Congo, ainsi que par l'état clinique des poulets après inoculation (pourcentage de mortalité, évolution de la clinique, degré d'importance des lésions).

## 1.1 CONDITIONS D'ISOLEMENT ET MISE EN CULTURE DE L'AGENT DE LA MALADIE

Les souches inoculées sont isolées à partir de cas de colibacilloses naturelles.

Les isolats se font à partir de différents organes : prélèvement de sang au niveau du

cœur sur des poulets atteints de colisepticémie. 36 % de *E. coli* à partir d'articulations, de la peau, du cœur, des poumons, des sacs aériens, du foie, de la rate et des sinus de poulets de chair infectés par *E. coli*, prélèvement à partir de sacs vitellins de poussins d'un jour cliniquement normaux.

L'isolement des *E. coli* se fait sur gélose au sang et gélose Mac Conkey tandis que leur culture a lieu sur gélose soya trypticase (CLOUD, 1985 et KRISHNAMOHAN, 1994).

La confirmation de l'isolement des *E. coli* se fait selon l'aspect de la culture et d'après les caractéristiques morphologiques et biochimiques de la bactérie.

Les propriétés pouvant être utilisées pour l'identification des isolats sont:

- l'hémagglutination,
- la résistance au sérum;
- la sensibilité aux antibiotiques
- la production d'aérobactine, de colicine V et l'hémolysine
- l'expression des antigènes K<sub>1</sub> ou K<sub>5</sub> (capsulaire) ;
- l'expression des protéines externes des membranes qui régulent le fer;
- la virulence sur les poussins d'un jour.

On peut rechercher aussi des séquences d'ADN codant pour les fimbriae F1A (fim) et P (pap), ou pour la synthèse et le transport d'aérobactine, l'opéron hémolysine (hly) ou celui de la lipoprotéine induisant la résistance au sérum (traT) (NIUSANGU et al., 1996).

Les isolats peuvent être conservés pendant 2,5 ans (CLOUD et al., 1985).

## 1.2 VIRULENCE DE LA SOUCHE

Le choix du sérotype est important.

Par exemple le sérotype O<sub>26</sub>K<sub>60</sub> n'est pathogène que pendant la première semaine de vie des poulets, tandis que le sérotype O<sub>78</sub>K<sub>80</sub> est responsable de lésions durant les trois premières semaines. De plus les lésions causées par le sérotype O<sub>78</sub>K<sub>80</sub> sont plus



importantes. De même lors de l'inoculation intratrachéale de colibacilles quatre jours après l'inoculation du virus IBV de la bronchite infectieuse on observe des lésions typiques de colibacillose avec le sérotype O78K80, alors qu'avec le sérotype O<sub>26</sub>K<sub>60</sub> on ne retrouve que des lésions d'aérosacculite (GOREN, 1978).

DHO et LAFONT (1982) étudient la colonisation de l'appareil respiratoire chez des poulets de deux semaines qu'ils inoculent par voie orale avec différentes souches de *E. coli*, virulentes ou non. Aucun signe clinique n'est observé malgré la colonisation de l'intestin et de la trachée par les souches virulentes YODER et coll. (1989) Ainsi le choix de la souche se fait en fonction de sa virulence. Les critères de virulence sélectionnés varient d'une étude à l'autre.

Les tests sur animaux (poulets ou dindons SPF) représentent une méthode fiable pour identifier les souches pathogènes et ont l'avantage de pouvoir être effectués sur l'animal cible. Parmi les tests rapides, le test de létalité sur poussin d'un jour montre une bonne reproductibilité et permet d'établir la dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) pour une souche donnée (DHO et LAFONT, 1984 et DHO-MOULIN, 1993).

La dose inoculée choisie par MUSANGU (1996) lors de la mise au point de son modèle expérimental correspond à la DL50. Ainsi les souches tuant plus de 50% des oiseaux inoculés sont considérées comme fortement virulentes, celles tuant entre 20 et 50% des oiseaux sont modérément virulentes et celles tuant entre 0 et 10% sont dites avirulentes. De même PINGAN et coll. (1996) relie la virulence au pourcentage de mortalité provoquée par la souche inoculée et considèrent une souche hautement pathogène quand elle entraîne un taux de mortalité supérieur ou égal à 60 % dans les 65 premières heures suivant l'inoculation; les souches présentant un taux de lésions inférieur ou égal à 60 % sont considérées de pathogénicité intermédiaire et celles n'entraînant ni mort ni lésion sont dites non pathogènes

POURBAKHSH et coll. (1997 b) déterminent la souche inoculée selon plusieurs caractères de virulence: l'adhérence in vitro à l'épithélium du pharynx de poulets axéniques, la présence des séquences d'ADN pap et pil et la production des fimbriae P (F11) et FI (type 1), la production d'aérobactine et la résistance aux effets bactéricides du sérum de poulet

BREE et coll. (1989) limitent l'étude des caractères de virulence à la capacité d'adhésion aux cellules épithéliales du pharynx, à la possibilité de capter le fer par le système aérobactine et de produire de la polysaccharide K de la capsule.

Suite à l'inhalation d' *E. Coli* par un aé <sup>38</sup> GJESSING, 1988), on ne retrouve plus d'*E. coli* fixant le Rouge Congo (CR+) ni d' *E. Coli* ne le fixant pas (CR-) au niveau des sacs aériens des poulets infectés 2 jours après l'exposition. Par contre on isole des *E. Coli* CR- à partir des poumons pendant 5 jours suivant l'exposition et des CR+ pendant 10 jours. Le phénotype CR+ est associé à la virulence. Mais il est important que les 2 souches CR- et CR+ d' *E. coli* proviennent de la même souche parentale pour montrer la virulence associée à l'expression du phénotype cellulaire.

Ainsi, en fonction des moyens dont on dispose et selon la finalité de l'étude, différents critères peuvent être pris en compte afin d'estimer la virulence de la souche.

### **1.3 CHOIX DE LA DOSE INFECTANTE**

La quantité de bactéries inoculées intervient dans l'expression clinique de la maladie. Lors de l'inoculation d' *E. coli* dans un sac aérien thoracique caudal de poulets SPF, NAKAMURA et coll. (1987) ont pu montrer une relation entre la virulence d'une souche et la dose inoculée. Ils définissent ainsi des souches fortement pathogènes si l'inoculation de  $5.10^7$  UFC entraîne 100% de mortalité ou que l'inoculation de  $5.10^5$  UFC provoque 10% de mortalité. De même des souches faiblement pathogènes, inoculées à la dose de  $1.10^9$  CFU, n'entraînent aucune mortalité. Ces mêmes souches ne sont responsables d'aucune mortalité, d'aucun signe clinique, ni d'aucune lésion histologique si elles sont inoculées à des doses de  $5.10^7$ CFU ou  $5.10^5$  CFU.

La voie d'inoculation module aussi les effets d'une même dose inoculée et doit être prise en considération lors de la détermination de cette dose.

BALIARSINGH et coll. (1993) inoculent des souches d' *E. Coli* (O<sub>2</sub> O<sub>61</sub> et O<sub>78</sub>,) à des poulets de 2 jours. Chaque souche est inoculée par les voies sous-cutanées, intra-péritonéale et orale. Il n'y a aucune supplémentation d'antibiotique ni d'anticoccidien. On inocule 0,2 ml par les voies intra-péritonéale et

sous-cutanée, et 0,9 ml par la voie orale à la concentration de  $1,01 \cdot 10^9$  E. coli/ml. Avec les souches O<sub>2</sub> et O<sub>61</sub>, on relève 100% de mortalité par les voies intra-péritonéale et sous-cutanée et 80 % de mortalité par la voie orale. D'autre part la mortalité cumulée des 3 jours suivant l'inoculation est plus élevée chez les poulets inoculés par les voies intra-péritonéale et sous-cutanée avec les 3 sérotypes.

Le modèle utilisé par CHARLESTON et coll. (1998) (inoculation de poulets de 14 jours par  $10^5$  unités d'IBV par voie intratrachéale, puis 3 jours plus tard  $10^6$  CFU d' *E. Coli* par voie intratrachéale) produit 43,5% de mortalité et 85% de morbidité chez les poulets inoculés non traités. Ces taux sont beaucoup plus hauts que les 5% de mortalité et les 50% de morbidité généralement rencontrés sur le terrain lors de colisepticémie. La mortalité observée dans cette étude correspond à celle observée dans de nombreux autres modèles de colisepticémie (BUMSTEAD, 1989; DOZOIS, 1994; DUNNINGTON, 1991 ; GJESSING, 1989; YODER, 1989). Par exemple DUNNINGTON et coll (1991) ont montré une mortalité de 5% des poulets inoculés avec moins de  $10^4$  C.F.U. d' *E. coli*, mais ce taux s'élève à 50% quand la dose augmente jusqu'à  $10^6$  C.F.U. .. Dans le modèle de Charleston la mortalité élevée parmi les oiseaux inoculés non traités peut être due à une dose élevée ( $10^6$  C.F.U.).

## **1.4 ASSOCIATION AVEC D'AUTRES FACTEURS D'AGRESSION**

### **1.4.1 Association d' *E. Coli* avec un autre agent infectieux**

Il arrive qu'une colibacillose se déclare suite à l'emploi d'un vaccin vivant mixte contre la maladie de Newcastle et la bronchite infectieuse, particulièrement en employant un aérosol. Ce type de vaccin induirait des lésions au niveau du système respiratoire des poulets de chair, sans apparition de signes cliniques, en absence de tout autre agent pathogène (Darell et all., 2003).

Lors d'essais d'inoculation intra-nasale du virus virulent de la bronchite infectieuse et d' *E. coli* il a été possible d'induire une colisepticémie avec mortalité (SMITH, 1985 ; BUMSTEAD, 1989 ; NAKAMURA, 1992). De plus l'inoculation intra-nasale (ADLER, 1962) et intratrachéale (SATO, 1970) du virus de la bronchite infectieuse et de mycoplasmes dans les sacs aériens avec l'administration par aérosol d' *E. coli* est responsable d'une colisepticémie (GROSS, 1961). Cette étude a été néanmoins la première à supposer que l'inoculation intranasale d'un mélange de virus et de mycoplasmes prédispose à la colisepticémie avec une mortalité importante.

NAKAMURA et coll. (1994) inoculent des poulets SPF, âgés de 7 jours, avec des mycoplasmes ( $10^8$  CFU) et des *E. coli* ( $10^9$  CFU) par voie intra-nasale. Ces poulets ont été préalablement vaccinés par voie intra-nasale avec un vaccin vivant mixte (souche BI du virus de la maladie de Newcastle et souche H120 du virus de la bronchite infectieuse). Certains poulets vaccinés puis inoculés par *E. coli* et les mycoplasmes sont morts de colibacillose, et présentaient une nécrose splénique avec exsudation fibrineuse et des sérosités fibrino - purulentes (*E. coli* a été isolée dans le cœur et le foie).

Tout cela suggère que l'utilisation de vaccins vivants peut engendrer des lésions et de la mortalité chez des poulets en présence de germes respiratoires pathogènes. Or de nombreux élevages renferment ce type de germes ce qui entraîne des précautions particulières quant au moment et à la voie choisis pour la vaccination, ainsi que pour le choix des souches de virus vaccinaux. L'infection par les mycoplasmes augmente le nombre d' *E. coli* et la persistance des lésions de la trachée. De plus, l'aérosacculite est plus sévère (NAKAMURA et coll., 1994).

D'autres agents prédisposent les volailles à une infection secondaire par *E. coli*.

On peut aussi provoquer une colibacillose en inoculant l'adénovirus aviaire du deuxième groupe causant l'entérite hémorragique du dindon, la maladie de la rate marbrée et la splénomégalie du poulet, au niveau des sacs aériens de poulets âgés de 6 semaines, suivie de l'inoculation d' *E. coli* 5 jours plus tard selon la même voie.

La double infection (virus de la rhino trachéite de la dinde/ *E. coli* O<sub>78</sub>K<sub>80</sub>) augmente la sévérité des signes cliniques ainsi que les lésions macroscopiques et microscopiques. Tous les poulets inoculés avec le virus de la rhino trachéite de la dinde associé à *E. coli*

présente une rhinite sévère et la quantité d' *E. coli* isolée dans la cavité nasale est plus importante lors de la double infection.

Ces résultats suggèrent que la rhino trachéite pourrait intervenir comme agent primaire, favorisant la multiplication des *E. coli*. Les lésions observées dans le groupe inoculé simultanément par les deux agents pourraient correspondre à une étape initiale du syndrome de la grosse tête et renforcer l'hypothèse que le syndrome infectieux du

gonflement de la tête serait dû à une double infection par le virus de la rhino trachéite et *E. coli* (MAJO et coll., 1997).

41

L'augmentation de la sensibilité à *E. coli* semble être limitée au système respiratoire.

Le fait que les poulets infectés par une maladie respiratoire soient plus résistants à l'inoculation d' *E coli* par voie intraveineuse que les poulets sains de contrôle semble exclure une source non respiratoire d' *E. coli* lors de l'expression d'une colibacillose respiratoire. Les poulets infectés par une maladie respiratoire sont soumis à un niveau croissant de stress qui permet l'augmentation de la résistance aux infections bactériennes par voie générale.

Les poulets sont exposés en permanence à de la poussière contenant des sérotypes pathogéniques d' *E. coli*. Les poulets sains paraissent résistants à l'administration d' *E. coli* par aérosol Or quand le système respiratoire devient sensible à l'administration d' *E. Coli* par aérosol, un faible taux d' *E. coli* suffit à déclencher la maladie. A ce niveau de sensibilité à *E. coli* la réponse cellulaire dans les sacs aériens est principalement de type lymphoïde avec de nombreux polynucléaires hétérophiles. Ces résultats suggèrent qu'un système respiratoire sain peut se défendre seul contre *E. coli*. S'il doit auparavant se défendre contre une infection à *Mycoplasma gallisepticum* ou contre la maladie de Newcastle, la réponse lymphoïde spécifique n'est pas adaptée à la défense contre *E. coli*. Ainsi *E. coli* complique l'infection respiratoire.

#### **1.4.2 Association d' *E Coli* avec un agent immunodépresseur**

L'étude de NAKAMURA et coll. (1987) montre que la cyclophosphamide peut augmenter l'infection causée par une souche d' *E. coli* de virulence élevée et faire apparaître les signes de l'infection lorsqu'il s'agit d'une souche d' *E. Coli* faiblement virulente. L'augmentation de la sensibilité suite au traitement par la cyclophosphamide semble être

associée à une déplétion des leucocytes dans le sang périphérique et les tissus lymphoïdes. Or les polynucléaires hétérophiles et les monocytes jouent un rôle dans la résistance lors des premières étapes de l'infection bactérienne.

La mortalité de poulets de chair boursectomisés à 5 jours d'âge et inoculés en I.M. avec *E. coli* à 6 et 12 semaines est significativement plus élevée que des poulets non

boursectomisés (SADLER et EDGAR, 1969). Le thymus de Fabricius intervient donc dans la résistance à l'infection bactérienne. D'ailleurs, des poulets d'un jour inoculés avec un virus affectant la bourse de Fabricius (virus de la maladie de Gumboro) et induisant donc une dépression des lymphocytes B sont significativement plus sensibles à *E. coli* inoculée en I.V. qu'à l'âge de 3 semaines.

Lors de la double inoculation du virus de la bronchite infectieuse et d' *E. coli*, BREE et coll. (1989) remarquent que les *E. coli* persistent dans le sang, les sacs aériens et le foie quelque soit la souche (virulente ou avirulentes). La présence du virus de la bronchite infectieuse affecterait les défenses de l'hôte et permettrait ainsi un développement plus important de la population d' *E. coli*. Ces dernières envahiraient les organes et leur élimination serait ralentie.

En 1985, ROSENBERGER et coll. notent que la sensibilité relative des poulets âgés de plus de deux semaines vis-à-vis d'une inoculation intratrachéale ou intra-veineuse de *E. coli* est augmentée après infection par différents virus (réovirus, adénovirus ou virus de la bursite infectieuse).

## **2. FACTEURS LIES AUX POULETS INFLUENCANT LA STANDARDISATION DE LA MALADIE**

### **2.1 CHOIX DE LA SOUCHE**

Lors de l'exposition de poulets de souches différentes à un aérosol contenant une souche virulente d' *E. coli* positive à la coloration au Rouge Congo, GJESSING et coll. (1988) suggèrent que la génétique pourrait jouer un rôle important dans la sensibilité des poulets à l'invasion par *E. coli*.

Souches de poulet	% de mortalité	
	43	
Brown Leghom		36
White Leghom		23
Light Sussex		53
Commercial hybrid		7
Rhode Island Red		69

**Tableau 1** : Variation du pourcentage de mortalité en fonction de la souche des poulets. Les poulets ont été inoculés par voie intra-nasale avec un mélange de souches du virus IBV et de sérotypes d' *E. coli*. (D'après SMITH et coll, 1985)

Lors de l'inoculation mixte d'agents pathogènes, les poulets sont sensibles à l'exposition d' *E. coli* par aérosol 8 jours après l'administration du mélange *Mycoplasma gallisepticum* - virus de la maladie de Newcastle. On sait que la concentration des agents respiratoires (Mycoplasmes et virus) est la plus grande 2 à 6 jours après l'inoculation. La sensibilité génétique à une infection secondaire par *E. coli* semble être plus associée à la sensibilité aux agents respiratoires en général qu'à la sensibilité à *E. coli* en particulier. Selon le même principe les poulets White Leghorn sont moins sensibles au virus IBV d'où une mortalité plus faible et une relative impossibilité à une souche atténuée d'IBV à permettre l'expression de la virulence d' *E. coli* (BREE et coll., 1989).

En fonction de la souche de poulet utilisée, il est possible qu'une immunité naturelle passive ou active dirigée contre *E. coli* se développe plus ou moins chez les individus. Le développement de cette immunité viendrait compliquer la modélisation de la maladie.

## 2.2 INFLUENCE DE L'AGE

On observe une augmentation de la résistance à l'infection avec l'âge quelque soit le sérotype utilisé. Les poulets âgés d'une semaine sont les plus sensibles à la colibacillose mais on peut expérimentalement reproduire l'infection jusqu'à 21 jours. Or sur le terrain la

colibacillose est généralement observée sur des poulets de plus de quatre semaines. Ceci serait dû à une augmentation de la pression environnementale durant la période d'engraissement et/ou au développement d'infections virales à partir de l'âge de trois semaines. Pour diminuer la contamination il est impératif d'assurer une ventilation adéquate pendant la deuxième moitié de la période d'engraissement (GOREN, 1978).

Chez les oiseaux plus âgés, la colisepticémie peut être induite en utilisant un agent initiateur pathogène respiratoire tels que le <sup>44</sup> et la bronchite infectieuse, *Mycoplasma gallisepticum*, ou le virus de la maladie de Newcastle. On a montré que les sérotypes d' *E. coli*, isolés des sacs aériens, augmentent les processus inflammatoires initiés par les agents viraux. Dans les élevages le virus de la bronchite infectieuse est souvent l'agent primaire qui permet l'infection par des germes secondaires dont les colibacilles (CHARLESTON et coll. 1998).

La baisse du taux de mortalité avec l'âge a été mise en évidence par SMITH (1985) lors de l'inoculation par voie intra-nasale du mélange de souches de virus de la bronchite infectieuse et de différents sérotypes d' *E. coli*

Age des poulets. (en jours)	1	7	14	21	28	35	42
% de mortalité	72	43	53	62	43	36	20

**Tableau 2** : Variation du pourcentage de mortalité en fonction de l'âge. (D'après Smith et coll., 1985)

Lors de l'infection intratrachéale précédée de l'inoculation sous forme vaccinale du virus de la bronchite infectieuse, les poulets inoculés avec *E. coli* à 7 jours présentent moins de lésions que ceux inoculés à 14 jours. Ceci s'expliquerait plus par la présence d'anticorps anti-virus de la bronchite infectieuse à 7 jours que par la présence d'anticorps maternels contre les *E. coli* car cette différence ne s'observe pas chez les poulets SPF dépourvus d'anticorps anti-IBV (GOREN, 1978).

L'âge des poulets doit donc être pris en considération lors de la planification des essais.

### 2.3 INFLUENCE DES CONDITIONS D'ELEVAGE



La couvaision et l'élevage des poulets axéniques se déroulent dans des isolateurs stériles dans lesquels les poulets restent toute la durée de l'essai. Ils reçoivent ad libitum de l'eau et de l'aliment stériles.

Les poulets libres de germes pathogènes (SPF) sont obtenus en inoculant oralement des poulets axéniques avec un complexe bactérien<sup>45</sup> constitué d'1 ml d'une suspension au 1/10 de fientes de poules adultes. Ils sont élevés sous les mêmes conditions que les poulets axéniques (BREE et coll., 1989).

Les poulets SPF et axéniques représentent deux modèles différents.

- Chez les poulets axéniques, la souche avirulente d' *E. coli* exprime ses capacités d'invasion lorsque le virus IBV a généré des lésions au niveau du tractus respiratoire. De plus, la souche virulente d' *E. coli* développe ses capacités d'invasion même en absence de virus.
- Ces résultats ne sont pas retrouvés chez les poulets SPF, ce qui suggère un rôle protecteur de la flore bactérienne indigène du tractus respiratoire (BREE et coll.1989).

En effet la colicine synthétisée par les entérobactéries inhibe la croissance des microorganismes sensibles. Cependant certaines *E. coli* sont résistantes à la colicine V. Ainsi la production de colicine par la microflore pourrait être un facteur de prévention dans la colonisation chez le poulet

En général les poulets de chair présentent davantage de lésions sévères que les poulets SPF d'âge comparable (GOREN, 1978).

Dans des conditions de stress une septicémie aiguë apparaît plus fréquemment chez les poulets dont la résistance aux *E. coli* est moins importante, Sur le terrain la colibacillose peut être induite par des situations stressantes telles que les maladies infectieuses, un manque de nourriture, une alimentation déséquilibrée ou une surdensité (NAKAMURA et coll., 1987).

Seul un tiers des poulets inoculés par voie oculo-nasale avec l'association virus de la rhino trachéite de la dinde et *E. coli* O78K80, présente un petit œdème péri orbital, une

rhinite et une trachéite, une péricardite et une aérosacculite fibrineuse, une nécrose des follicules lymphoïdes de la pulpe blanche de la rate et une déplétion lymphocytaire de la bourse de Fabricius.

Des lésions septicémiques similaires ont été décrites lors de cas cliniques du syndrome infectieux du gonflement de la tête, associées <sup>46</sup> ement d' *E. coli*. Les souches d' *E. coli* isolée alors ne présentent pas de facteurs de virulence communs entre elles.

Cela supposerait que les poulets infectés par le virus de la rhinotrachéite de la dinde développeraient un syndrome de la grosse tête suite à l'infection secondaire par *E. coli* ou toute autre bactérie. Mais d'autres facteurs peuvent intervenir : l'environnement, une forte densité de population, une mauvaise ventilation, un taux élevé d'ammoniac et des sensibilité individuelles. Le fait que lors de l'essai un faible pourcentage d'animaux développe le syndrome de la grosse tête proviendrait de l'absence de ces facteurs, difficiles à reproduire expérimentalement et semblant déterminant au développement de la maladie. Les essais expérimentaux sont en effet souvent insuffisants et doivent être complétés par des essais cliniques effectués sur le terrain.

### **3. INFLUENCE DE LA VOIE D'INOCULATION DANS LA REPRODUCTION DE LA MALADIE**

Une souche d' *E. coli* peut avoir des effets différents selon la voie d'inoculation: administrée dans le sac vitellin à un jour elle entraîne de la mortalité , la même dose donnée oralement entraîne un gain de poids et un meilleur indice de consommation. L'effet négatif de l'infection du sac vitellin par *E. coli* pourrait être du aux entérotoxines alors que l'effet "croissance" lors de l'inoculation orale n'est pas totalement élucidé (SCHMIDT et coll. 1988).

En fonction de la forme clinique de colibacillose que l'on veut exprimer et de l'objectif de l'étude l'inoculation des bactéries aux poulets peut se faire selon différentes voies d'entrée.

#### **3.1 INOCULATION A L'OEUF**

L'inoculation à l'œuf a été utilisée par (WOOLEY et all., 1994) lors de l'étude de la flore intestinale des poulets éclos.

La coquille de chaque œuf a été tamponnée de 0,2 ml de bouillon de culture (infusion cœur-cervelle) d' *E. coli*. Les poulets ont <sup>47</sup> sacrifiés aux semaines 1,2 et 3 suivant l'inoculation. Et la mise en évidence des souches de *E. coli* s'est fait à partir de prélèvement du tractus intestinal. L'étude des échantillons a montré que la population intestinale d' *E. coli* se développe rapidement au cours de la couvaison puis leur nombre décroît avec le temps. Un nombre croissant d' *E. coli* intestinal acquière la possibilité de synthétiser la colicine de la 1<sup>ère</sup> à la 5<sup>ème</sup> semaine. Les souches non pathogènes ne persistent pas chez le poulet. La colicine joue un rôle dans la colonisation de l'intestin par des bactéries invasives.

La production de colicine par la flore normale peut être un autre moyen impliqué dans l'exclusion bactérienne de micro-organismes inoculés oralement à des poulets nouvellement éclos.

Cette étude démontre la possibilité d'appliquer des organismes sur la coquille des embryons avant l'éclosion comme un moyen d'introduire des micro-organismes chez les poulets nouvellement éclos.

### **3.2 INOCULATION SOUS-CUTANEE**

L'inoculation sous-cutanée peut se faire par injection de la suspension d' *E. coli* au niveau du cou comme ont procédé (PINGAN et all., 1996) lors de l'étude de la virulence de différentes souches de colibacilles.

Lors de l'étude de la dermatite nécrotique colibacillaire (GOMIS et all.,1997) inoculent des poulets âgés de 25 jours en sous-cutané en région abdominale caudale gauche avec  $10^9$ ,  $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$  ou  $10^5$  CFU d' *E. Coli* de sérotype O78 dans 1 ml de solution saline. Avec cette technique il est nécessaire de plumer préalablement la zone d'inoculation ou de scarifier la peau avec une aiguille avant d'appliquer la suspension d' *E. coli*.

L'inoculation par voie sous-cutanée présente certains avantages. Il est possible de

déterminer le nombre de bactérie nécessaire pour la reproduction expérimentale du modèle et la répétition de l'essai expérimental. De plus cette voie d'entrée est peu traumatisante pour l'oiseau. L'altération de la peau est cependant nécessaire pour

permettre à *E. coli* de coloniser le tissu sc 48 ané sans tenir compte du mode d'entrée de la bactérie.

Suite à l'inoculation d' *E. coli* à des canards âgés de 4 semaines par voies sous-cutanée et intratrachéale, préalablement infectés ou non par un réovirus, (KEMPF.,1993) constate que la pathologie est plus sévère suite à l'inoculation sous-cutanée (la mortalité est en effet plus élevée). Cette voie d'entrée peut aussi être responsable de colisepticémie.

### **3.3 INOCULATION INTRAMUSCULAIRE**

L'inoculation par voie intramusculaire se fait par injection profonde dans les muscles pectoraux au niveau de la pointe du bréchet.

Avec cette méthode on connaît la quantité de bactéries inoculées à chaque poulet pour reproduire les troubles recherchés.

Ce mode d'inoculation entraîne le développement d'une septicémie, avec l'atteinte des organes filtres.

### **3.4 INOCULATION AU NIVEAU DES SACS AERIENS**

L'inoculation dans le sac abdominal gauche, par exemple, se fait à l'aide d'une seringue et d'une aiguille, à mi-parcours entre les deux dernières côtes entre le bord dorsal du dos et le bord ventral du sternum. La possibilité d'aspirer de l'air indique que l'aiguille est bien dans la lumière du sac aérien.

C'est cette méthode que (POURBAKHS et all., 1997) utilisent pour inoculer des poulets âgés de 12 jours avec  $10^8$  CFU d' *E. coli* (0,1 ml) dans les sacs aériens thoraciques gauches. Les oiseaux ont préalablement été mis sous sédation (mélange 50 : 50 de Rompun., 0,01 mg/ml, et Kétamine, 0,02 mg/ml, à la dose de 1 ml/kg).

NAKAMURA et coll. (1986) inocule des poulets SPF âgés de 10 semaines par cette même voie avec une dose équivalente ( $5,4 \cdot 10^8$  UFC d' *E. coli*).

Suite à l'inoculation au niveau des sacs aériens, l'inflammation et l'hyper vascularisation apparaissent rapidement dans les sacs aériens et les bactéries ont ainsi l'opportunité de pénétrer dans le système vasculaire et d'entraîner une bactériémie. L'adhérence des

bactéries aux cellules épithéliales des capillaires aériens, démontrée par (POURBAKHS et all., 1997 b) suggère que le passage de <sup>49</sup> à travers la barrière des capillaires aériens pourrait être la première voie d'entrée dans le système circulatoire au début de l'infection. En effet la colibacillose aviaire débute par une aérosacculite puis évolue en péricardite et périhépatite ; l'invasion bactérienne du système circulatoire par les sacs aériens altérés peut donc bien être considérée comme une porte d'entrée importante

Ce modèle permet d'émettre l'hypothèse suivante sur la dynamique de l'infection par *E. coli*.

L'inoculation d' *E. coli* est suivie de l'invasion du système vasculaire par les bactéries au niveau des sacs aériens altérés ou de l'invasion des poumons en suivant les flux de l'air. Les *E. coli* pénètrent dans le système circulatoire où l'infection peut ensuite s'étendre au myocarde puis aux organes filtres et plus tard au sac péricardique et ainsi entraîner une périhépatite et une péricardite fibrineuse.

D'après (DOZOIS, 1994) 30 à 55% des poulets inoculés par la voie intratrachéale expriment les lésions macroscopiques de colibacillose. Dans l'étude de (POURBAKHS et all., 1997 b) 75 à 100% des poulets inoculés au niveau des sacs aériens présentent des lésions. Il est probable qu'en évitant les mécanismes physiques d'évacuation et d'autres mécanismes de défense locale du système respiratoire supérieur par l'inoculation directe des sacs aériens on favorise le taux d'infection. Cependant des changements microscopiques de la trachée et du larynx suggèrent qu'il y a un transport mucociliaire des *E. coli* vers la glotte, causant des dommages au niveau de ces sites. On ne sait pas comment les particules, à partir de structures non ciliées des sacs aériens atteignent les zones de transport mucocilié. Il est possible que les particules d' *E. coli* inoculées dans le sac aérien caudal, suivent le flux de l'air et dans certains cas échappent au système de défense du système respiratoire et sont exhalés.

L'intérêt de ce modèle d'infection est qu'il ne nécessite pas d'agent précurseur de l'infection. Ce modèle permet de comprendre la dynamique de l'infection et le rôle des

composants de surface de *E. coli* tels que les *fimbriae* dans la réponse inflammatoire générale.

### **3.5 INOCULATION PAR VOIE INTRA-NAS 50**

MAJO et coll. (1997) inoculent des poulets SPF de 15 jours à l'aide de gouttes dans les yeux et par voie intra-nasale avec le virus de la rhinotrachéite de la dinde (RTIV) et/ou *E. coli* O78k80. La quantité d' *E. coli* isolée au niveau des cavités nasales est plus importante lors de la double infection ce qui suggère que le virus de la rhinotrachéite de la dinde correspondrait à l'agent initiateur qui permettrait ensuite la multiplication des *E. coli*. L'évaluation de l'infection se fait principalement à partir des lésions des cavités nasales et des sinus infraorbitaires, de la trachée, des poumons et des sacs aériens.

(SMITH et al.,1985) étudient la reproduction de la colibacillose en inoculant par voie intranasale différentes souches du virus de la bronchite infectieuse associées à différents sérotypes de colibacilles, à des poulets d'âge et de races variables. Les groupes recevant un mélange d'IBV et/ou de souches d' *E. coli* présentent un taux de mortalité supérieur à 50%. La maladie expérimentale ressemble fortement à la maladie de terrain.

Les conditions de reproduction expérimentale de la maladie selon cette méthode ne sont pas rigoureuses quant à la taille des inocula et le temps d'administration de chacun des agents.

Cependant en (SPRINGER et al. 1974) ont montré que cette méthode d'administration donnait lieu à une maladie peu sévère.

### **3.6 INOCULATION PAR VOIE ORALE**

L'inoculation par voie orale permet également de reproduire la maladie mais uniquement chez le poulet d'un jour éprouvé à l'aide de doses très élevées ( $10^7$  germes / ml). (GOREN ;1978)

Afin de montrer le rôle du virus de l'entérite hémorragique dans l'émergence d'une colibacillose secondaire, (NEWBERRY et al., 1993) inoculent 2 souches d' *E. coli* par voie orale, dans l'eau de boisson et pendant 10 jours, à des dindes âgées de 7 semaines,

après l'inoculation orale du virus de l'entérite hémorragique. L'inoculum est constitué du mélange de 2 souches d' *E. coli* pour mimer les conditions normales d'exposition aux souches d' *E. coli*. En utilisant des souches virulentes du virus et d' *E. coli* le taux de

mortalité n'est cependant que de 23%. Il ne dépassait pas 14% lors de l'inoculation de souches non virulentes du virus.

51

Des poulets inoculés avec le sérotype O<sub>78</sub>K<sub>80</sub>, par voie orale, ne présentent des lésions de colibacillose que pendant les deux premières semaines de vie et si, et seulement si, la dose inoculée est suffisante. Cette voie d'inoculation semble avoir peu d'importance (GOREN, 1978). Cependant (SANCIDTA et SOM,1992) ont observés 100% et 80-100% de mortalité lors d'infection expérimentale par *E. coli* de cailles adultes inoculées respectivement par voie intrapéritonéale et orale (KRISHNAMOIHAN, 1994).

La colonisation des intestins par *E. Coli* depuis l'œsophage jusqu'au rectum se produit aussi bien avec les souches apathogènes qu'avec les souches pathogènes. Les souches pathogènes montrent cependant une plus grande aptitude à coloniser le tractus digestif (quantité plus importante, persistance plus longue). Le caecum et le rectum sont les lieux de plus intense colonisation quelle que soit la voie d'inoculation (ANDREATTI-FILHO, 1993).

L'inoculation orale d' *E. coli* à des poulets gnotobiotiques âgés de 2 jours a des effets nuisibles et augmente la mortalité. Les effets de l'inoculation orale sont associés à la présence ou non de microorganismes intestinaux. Une dose orale de *Lactobacillus acidophilus* donnée à des poulets de 2 jours permet en effet une mortalité moindre suite à l'inoculation orale d' *E. coli*. Bien que la constitution de la microflore ne soit pas déterminée, on peut supposer que les *E. coli* données à l'éclosion induisent des variations bénéfiques de la microflore intestinale. La souche d' *E. coli* inoculée se développerait au dépend d'autres organismes, probablement d'autres, coliformes. Ces résultats supposent l'hypothèse. D'une microflore optimale qui permettrait des performances supérieures par le biais d'une synergie entre l'oiseau et les microorganismes intestinaux (Chizu et all., 2002).

Des études sont faites utilisant le *Lactobacillus* en prophylaxie contre l'infection par *E. coli*. Le *Lactobacillus* agirait en empêchant le développement d'autres bactéries

entériques en se fixant à l'épithélium.

Cette voie d'inoculation montre que les conditions d'élevage et l'alimentation ont une influence sur le développement des organismes (SCHMIDT et al., 1988).

### 3.7 INOCULATION INTRA-TRACHEALE 52

Cette voie d'inoculation a été utilisée par différentes équipes de recherche.

GOREN et coll. (1988) inoculent des poulets âgés de 17 jours par voie intratrachéale de la façon suivante. Ils instillent d'abord par voie oculo-nasale le virus de la bronchite infectieuse pour prédisposer les oiseaux à l'infection par *E. coli*. Quatre jours plus tard ces mêmes poulets reçoivent par voie intratrachéale des *E. coli* O<sub>78</sub>K<sub>80</sub> (à la dose de 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> CFU par poulet).

Dix ans plus tard (POURBAKHSH et al., 1997 a) utilisent cette même méthode pour étudier l'expression des fimbriae.

Pour comparer l'efficacité de plusieurs anti-infectieux lors de colibacillose, (ONKEN, 1994) inocule des poulets par voie intratrachéale à l'aide de 0,2 ml d'une suspension bactérienne contenant 12.10<sup>10</sup> UFC d' *E. coli*. Il utilise un placebo (NaCl solution) pour le lot servant de référence

La mortalité et les lésions sont moins prononcées lors d'inoculation par voie intratrachéale que lors d'injection directe au niveau des sacs aériens (VAN DEN HURK et al., 1994). De plus 50% des oiseaux ayant développé une bactériémie sont retrouvés sains à la fin de l'essai. Cela laisse supposer que l'escalator mucociliaire et les poumons jouent un rôle plus efficace que les sacs aériens dans l'élimination des *E. coli*.

En 1978, GOREN montre qu'une souche de *E. coli* O<sub>78</sub> K<sub>80</sub>, inoculée au cours des trois premières semaines de vie des poulets. par voie intratrachéale, permet de reproduire des symptômes et des lésions de colibacillose, les poussins sont plus sensibles à l'inoculation par voie intratrachéale que par voie orale. Cependant la maladie ne peut être reproduite chez les poussins récemment éclos 'qu'en utilisant de fortes doses. On considère que vraisemblablement l'infection naturelle intervient par la voie aérienne et que la plupart des cas de colibacillose observés sur le terrain sont secondaires à une infection de l'appareil respiratoire par des virus virulents (GOREN, 1978).

De même, ROSENBERGER et coll. (1985) rapportent que plus de 10<sup>7</sup> bactéries



hautement pathogènes sont nécessaires pour induire des lésions et/ou de la mortalité chez plus de 50% des sujets lors d'inoculation par voie intratrachéale. Cependant les souches faiblement pathogènes n'induisent pas de mortalité quelle que soit la dose

administrée. D'autre part les oiseaux développent vers l'âge de 15 jours une résistance à l'inoculation intratrachéale mais restent sensibles à une épreuve réalisée par voie intraveineuse.

La colibacillose développée après l'inoculation par voie oculo-nasale du virus de la bronchite infectieuse suivi deux jours plus tard par l'inoculation intra-trachéale d' *E. coli*, est analogue à la maladie de terrain. Les autres modes d'inoculation ne donnent lieu qu'à de faibles effets pathologiques. Ce modèle expérimental reproduisant les taux lésionnel et de mortalité rencontrés sur le terrain apparaît adéquat pour l'étude de la pathogénie de la maladie spontanée (BREE et al., 1989).

### 3.8 INOCULATION PAR AEROSOL

Des reproductions expérimentales de la colibacillose par les voies naturelles de contamination nécessitent l'utilisation de facteurs déclenchant (virus, mycoplasmes), mais permettent de reproduire les lésions typiques de la maladie ainsi qu'une mortalité proche de celle observée sur le terrain (GOREN, 1978 et BREE et al. 1989). Ce modèle expérimental est cependant délicat à mettre en place car le risque de diffusion du virus virulent inoculé demeure toujours présent.

Le principe de cette voie d'inoculation est le suivant: (ARP et al., 1978) inoculent les animaux en les laissant 15 minutes dans une chambre d' 1m<sup>3</sup> sous un aérosol dont la taille des particules est de 2,5 µm (soit 10<sup>6</sup> à 10<sup>6,5</sup> bactéries/litre d'air).

Chez les poulets d'un jour l'inoculation par voie orale semble plus efficace pour induire une colibacillose, tandis que pour les volailles âgées de 45 jours la reproduction de la maladie est meilleure en inoculant au niveau du tractus respiratoire. Les souches apathogènes sont soit absentes soit rapidement éliminées du sang alors que les souches pathogènes induisent toujours une bactériémie. Les poumons semblent jouer un rôle de réservoir à partir duquel se disséminent les *E. coli* quand les bactéries sont inoculées par voie respiratoire (SCHMIDT et al., 1988).

En exposant les poussins d'1 jour à un aérosol contenant des *E. Coli* positives (CR+) ou négatives (CR-) au rouge Congo, (GJESSING,1988) essaie de reproduire la voie naturelle d'exposition aux organismes dans les couvoirs (inoculation par inhalation d'un

aérosol pendant 20 minutes). La mise en évidence d' *E. coli* CR+ ou - à partir des poumons des poulets infectés jusqu'à 10 jours <sup>54</sup> t l'inoculation la présence de signes de colisepticémie, d'aérosacculite et des lésions associées supposent que l'exposition à un aérosol d' *E. coli* suivi de leur inhalation dans le couvoir est de première importance dans la pathogénicité des *E. coli* responsables d'aérosacculite et de colisepticémie. Le faible nombre d' *E. coli* CR+ et CR- isolées des sacs aériens, contrairement au nombre élevé retrouvé dans les poumons, indique que le poumon agit probablement comme un site important d'infection.

Une aérosacculite et une colisepticémie peut être reproduite expérimentalement en utilisant la voie naturelle d'exposition lorsque les souches d' *E. coli* de l'inoculum sont correctement choisies. Le pourcentage de lésions (9,5%) et de mortalité (2,75%) correspond à ce qui est observé sur le terrain; cet essai reproduirait les conditions environnementales (exposition de 20 minutes dans une chambre d' 1 m<sup>3</sup>) et la voie d'infection par inhalation éprouvée par les poulets au couvoir. L'essai supporte l'hypothèse que l'apparition d'une aérosacculite et d'une colisepticémie chez le jeune poulet est directement relié à l'inhalation d' *E coli* CR+ pathogènes au couvoir (GJESSING et all., 1988).

Pour comparer l'efficacité entre différents produits et traitements, les modèles expérimentaux doivent produire une maladie assez prononcée.

#### **4.CRITERES D'EVALUATION**

##### **4.1OBSERVATIONS CLINIQUES DES POULETS**

Les critères d'évaluations de l'état clinique des animaux sont un retard de croissance, de la faiblesse, des troubles locomoteurs et des difficultés respiratoires. Les poulets sont ternes, sans énergie, affaiblis et blottis les uns contre les autres.

Le gain de poids et l'isolement d' *E coli* à partir des organes internes sont les critères les plus fiables pour distinguer une souche virulente d'une souche avirulente d' *E. coli* (BREE et all., 1989).

Dans le modèle de (CHARLESTON,1998).<sup>55</sup> ont une inoculation par voie intra-trachéale, les poulets survivants à l'inoculation ou guéris suite au traitement ont grossi au même taux que les poulets non infectés dès la troisième semaine après l'inoculation. Les oiseaux présentant des lésions de sévérité intermédiaire et développant des lésions importantes ont une croissance similaire, bien que le taux de mortalité des oiseaux ayant des lésions sévères soit élevé. En fait la baisse de compétition pour l'espace et les points d'eau a permis un taux de croissance des oiseaux présentant des lésions sévères plus haut que ce qui était attendu.

Les signes cliniques et les lésions macroscopiques sont plus sévères lors de l'inoculation dans les sacs aériens par rapport à l'inoculation intra.-trachéale (POURBAKSH, 1997 a).

## **4.2 LESIONS ET SCORES LESIONNELS**

### **4.2.1 Lésions typiques**

Lors de l'examen pathologique, l'attention est portée sur les lésions typiques de colibacillose telles que la péricardite, la périhépatite et l'aérosacculite.

Les aérosacculite et les péricardites sont les lésions macroscopiques les plus évidentes.

Microscopiquement les lésions sont caractérisées par une inflammation avec la présence de polynucléaires et de cellules mononuclées. Avec des zones de foyers de nécrose, particulièrement sur le cœur (ANDREATTI-FILHO et all., 1993).

Occasionnellement on observe la formation de thrombi dans les sinusoides du foie.

Les lésions des séreuses correspondent à une inflammation fibrino-purulentes (atteinte de l'épicaarde. du péricarde, du sac péritonéal hépatique et des séreuses gastro-intestinales).

On retrouve systématiquement au moins une aérosacculite (atteinte de l'appareil respiratoire) chez les poulets atteints de colibacillose. Cela indique que l'infection

56

début dans les sacs aériens, avec probab la libération de toxines pouvant être responsables de fuites vasculaires d'où découlent les modifications macroscopiques.

Quel que soit l'âge du poulet, la voie d'inoculation, le sérotype utilisé, les lésions de périhépatite n'apparaissent que combinées à une péricardite, ce qui suggère que les troubles circulatoires (congestion causée par l'insuffisance cardiaque) doivent faire partie du syndrome colibacillose (GOREN, 1978).

Ainsi les variations pathologiques des organes au niveau desquels peu de bactéries ont été isolées seraient probablement causées par des toxines libérées lors de la bactériolyse (GOREN,1978).

#### **4.2.2 Lésions de dermatites**

Lors de dermatite nécrosante à *E. coli* la lésion correspond à un œdème et une décoloration de la peau en région caudale de l'abdomen (au niveau du point d'inoculation).

Chez les oiseaux morts ou euthanasies on observe des masses molles, jaune-brun ou rouge-brunâtre, de 3 à 5 mm d'épaisseur et large de 2 à 4 cm sur 10 à 4 cm de long au niveau de la peau abdominale et du tissu sous-cutané.

Six heures après l'inoculation on observe la présence de liquide d'œdème et de fibrine au point d'inoculation. Les lésions sont en place 24 heures suivant l'inoculation.

La bactériémie persiste pendant 3 jours après l'inoculation puis disparaît. Pratiquement tous les oiseaux développent aussi une péricardite, une aérosacculite et une périhépatite (à partir desquelles on isole *E. coli*) (GOMIS et all., 1997).

Dans la plupart des essais de reproduction de dermatite, la production d'une septicémie

est peu fréquente. Or dans l'essai de (GOMIS,1997) la reproduction de la dermatite associée à d'autres lésions telles que des péricardites, des aérosacculite, des périhépatite, des ostéomyélites et des arthrites sur le même oiseau apparaît dans 80 à 90 % des cas. Cela montre la capacité de certaines souches de *E. coli* à produire à la fois une dermatite et une septicémie, comme observé sur le terrain. Il n'est pas démontré que

des facteurs génétiques ou que l'influence ( 57 ) environnement intervient dans la capacité des *E. coli* à produire à la fois des dermatites et les autres lésions typiques de colibacillose.

Pour confirmer le fait que les *E coli* isolées au niveau de dermatites peuvent produire une infection généralisée, il serait nécessaire d'utiliser une voie d'infection plus naturelle lors de l'inoculation des poulets.

#### **4.2.3 Autres lésions**

Les lésions de la rate se présentent sous la forme d'une nécrose des follicules lymphoïdes et avec exsudation de fibrine. L'augmentation du poids relatif de la rate chez les poulets inoculés par *E coli* est probablement du à la congestion et à l'hyperplasie des cellules réticulaires de la rate. Il apparaît parfois des lésions oculaires.

La baisse des poids relatifs de la bourse de Fabricius et du thymus des poulets inoculés est en accord avec la déplétion lymphocytaire des tissus lymphoïdes.

#### **4.2.4 Evaluation de l'importance lésionnelle**

Les lésions sont appréciées d'après un système de points attribués en fonction du stade d'évolution de la lésion. (GOREN,1978) choisit de noter les lésions de la façon suivante.

Organe	Définition de la lésion	Notation
Coeur	- accumulation excessive de liquide clair dans la cavité péricardique	+
	- liquide fluide dans la cavité péricardique ou péricarde opaque	+
	- fibrine étendue dans la cavité péricardique	++
Foie	- point de fibrine	+
	- plaques de fibrine à la surface du foie	+
	- fibrine recouvrant tout l'organe (avec parfois des adhérences et une tumescence du foie)	++
Sacs aériens	- sacs aériens thoracique et/ou abdominal modérément troubles	+
	- sacs aériens opaques avec présence d'un exsudat	+
	- sacs aériens opaques avec exsudat en quantité importante	++

#### 4.3 ISOLEMENT DE LA BACTERIE ET AUTRES EXAMENS

On cherche à isoler la bactérie à partir des lésions observées afin de s'assurer de la concordance entre les lésions et la présence de la bactérie.

Ainsi lors de colisepticémie, des prélèvements sont effectués à partir des sacs aériens, du sang et du foie pour permettre une culture sur gélose MAC CONKEY'S (KRISHNAMOHAN, 1994). Suite à l'inoculation oculo-nasale les prélèvements se font au niveau de la conjonctive, des volutes nasales, de la trachée, des poumons, des sacs aériens, du foie, de la rate, du duodénum, du pancréas, des reins, du thymus et de la bourse de Fabricius. ( MAJO et all., 1997) . Ensuite l'identification de la bactérie se fait selon ses propriétés biochimiques.

98% des poulets inoculés par voie sous-cutanée développent une dermatite avec isolement de *E. coli* à partir de 95 % des lésions (GOMIS et all., 1997).

Aucune des souches isolées de dermatite ne produit de l'hémolysine. Cela suggère que la production d'hémolysine n'est pas un facteur important dans la colibacillose des volailles (MUSANGU et all., 1996).

Pour réaliser ses analyses (évolution des C.M.I. des souches d' *E. coli* vis-à-vis de l'apramycine) KOBE (1996) effectue ses prélèvements à partir du cloaque des poulets et du contenu caecal. Les résultats différents selon le lieu de prélèvement; d'où l'importance du lieu de prélèvement qui doit être pris en considération lors de la comparaison d'études

différentes.

L'isolement des *E. coli* à partir de péricardites et d'aérosacculite est possible quand les lésions sont aiguës mais l'isolement n'est plus possible sur des lésions subaiguës.

La présence d' *E. coli* au niveau du péricarde et des sacs aériens d'oiseaux ne présentant pas de lésions importantes est probablement associée au démarrage de l'infection dans ces sites alors que les lésions macroscopiques ne sont pas encore développées.

Par contre l'absence d' *E. coli* au niveau de lésions sévères telles que les péricardites ou les aérosacculite à partir de 7 jours suivant l'inoculation suppose que les oiseaux sont capables de résorber complètement l'infection alors que les dépôts de fibrine dus à

l'inflammation persistent. Certains oiseaux présentent des lésions chroniques et localisées ; ceci suggère que non seulement ils peuvent éliminer l'infection mais aussi résorber l'inflammation

POURBAKHS et coll.,1997 a) suivent l'évolution de la bactériémie par des prises de sang à la veine alaire (1 ml de sang) avant l'inoculation puis 3, 6, 12, 24 et 48 heures après l'inoculation. Ils étudient l'évolution quantitative des antigènes des fimbriae et des bactéries dans le sang.

Suite à l'inoculation en sous-cutanée (GOMIS,1997) étudie la bactériémie à l'aide de ponction de 2 ml de sang périphérique dans la veine alaire à 6 heures, puis aux jours 1, 3, 5, 7 et 14 post-inoculation. *E. coli* est mis en évidence à partir des lésions de dermatite, du péricarde, des sacs aériens, du sang, mais aussi à partir de la rate. Dans le cas de lésions chroniques on isole moins de *E. coli* à partir des lésions de péricardite et d'aérosacculite qu'à partir de la dermatite sur un poulet présentant les 2 types de lésions.

L'isolement de la bactérie est aussi fonction de sa virulence. Ainsi suite à l'inoculation par aérosol (ARP et al., 1978), la souche avirulente d' *E. coli* persiste à un titre élevé au niveau des poumons tandis qu'elle est éliminée des sacs aériens en 2 jours; on ne la retrouve jamais dans le sang ou le foie. La souche virulente est éliminée des poumons et des sacs aériens respectivement en 15 jours et 5 jours. Elle est retrouvée de façon sporadique au niveau du sang et du foie pendant 8 jours suivant l'inoculation. Les souches d' *E. coli* virulentes possèdent donc des facteurs de virulence permettant le passage du tractus respiratoire au système circulatoire, alors que ces facteurs font défaut

chez les souches avirulentes.

La grande diversité de paramètres pouvant influencer le déclenchement et l'évolution d'une colibacillose implique de bien maîtriser le protocole expérimental d'un essai afin de pouvoir analyser les résultats.

Bien que la voie d'inoculation intramusculaire ne soit pas la voie la plus fréquemment employée dans les protocoles expérimentaux pour reproduire une colibacillose, elle présente néanmoins l'avantage de contrôler le nombre de germes inoculés et de déclencher l'apparition de lésions inflammatoires des séreuses viscérales. C'est donc ce mode d'inoculation qui a été retenu pour notre étude.

## **PARTIE EXPERIMENTALE**



## **CHAPITRE I**

***REPRODUCTION PAR VOIE AEROSOL D'UNE***

***COLIBACILLOSE AVIAIRE***

## **Objectif**

L'objectif de notre essai est de standardiser un protocole de reproduction expérimentale de colibacillose aviaire proche de la maladie naturelle par infection par voie aérienne permettant d'obtenir en 5 jours, 5 à 10%

de mortalité et 20 à 30% de morbidité pour pouvoir établir un traitement ou une prophylaxie efficace.

61

## **1. MATERIELS ET METHODES**

### **1.1 MATERIELS**

#### **1.1.1 Protocole de l'essai**

5 lots de poulets de 3 semaines ont été inoculés avec une souche de colibacille O78K80 en aérosol ou par voie intramusculaire avec deux doses différentes (aérosol), combinées ou non avec un stress additionnel de façon à reproduire une colibacillose aviaire proche de la maladie naturelle.

Inoculés à J0, les 25 animaux de chaque lot ont été suivis cliniquement jusqu'à J5 et les survivants euthanasiés et autopsiés à J6. Les critères de suivi portaient sur :

- La mortalité, la morbidité, la clinique et les lésions (score lésionnel)

La durée de l'essai était de 05 jours avec une inoculation à J0, une euthanasie et autopsie à J6.

#### **1.1.2 Animaux et animalerie**

Cent cinquante (150) poulets de race Ross Jaune de sexe mâle et femelle, âgés de trois semaines indemnes de maladies intercurrentes au moment de l'expérimentation et de poids moyen identique ont été répartis en six lots.

Tous les poulets ont été pesés et Identifiés individuellement par bague alaire numérotée. Outre l'examen global des animaux livrés, un contrôle sanitaire a été effectué sur un échantillon de dix poulets prélevés au hasard. Ce contrôle comprenait, outre l'examen clinique et nécropsique, la recherche au laboratoire d'infestation parasitaire digestive notamment de coccidiose et la vérification d'absence d'infection salmonellique. Les résultats devaient être négatifs pour l'inclusion dans l'essai.

Les animaux ont été entretenus au sol sur une litière de copeaux avec une densité de dix par mètre carré. Le matériel d'alimentation, d'abreuvement et de chauffage approprié avait été mis en place et identifié pour chaque lot.

Les abreuvoirs siphoniques étaient suspendus à un peson à cadran permettant de relever par différence la consommation quotidienne d'eau.

Les animaux ont été nourris avec un aliment du commerce sans additifs autre que l'anticoccidien.

### **1.1.3 Infection expérimentale**

62

### **2-3-1 bactérie(espèce et sérotype)**

- *E. coli* O78K80 : il s'agit d'une souche septicémique pathogène chez la volaille sensible à la fluméquine et l'amoxicilline, conservée dans la souchothèque du laboratoire et dont les caractéristiques sont bien connus de nous car elle a été utilisée pour tous les précédents essais d'évaluation thérapeutique.

## **1.2 METHODES**

### **1.2.1 Préparation de l'inoculum bactérien**

Une succession de subculture, d'abord sur gélose au sang (biomérieux) puis en bouillon sur Z média a permis d'obtenir au bout de 24 heures une culture titrant  $10^7$  à  $10^8$  CFU/ml. Une succession de lavage en PBS et centrifugation avec à la fin remise en suspension a fournis l'inoculum final qui a été congelé à  $-80^{\circ}\text{C}$  en alicot de 5 ml jusqu'au jour d'utilisation. Un contrôle d'identité et pureté a été effectué aux différentes étapes de la préparation.

### 1.2.2 Modalités d'administration

- **Lot A1** : 25 poulets ont été inoculés par voie aérosol avec une dose d'*E. Coli* O78K80 titrant  $10^7$  CFU/ml et sans stress additionnel (retrait d'aliment, d'eau et présence d'ammoniac 50 PPM dans l'ambiance).
- **Lot A2** : 25 poulets ont été inoculés par voie aérosol avec une dose d'*E. Coli* O78K80 titrant  $10^8$  CFU/ml et sans stress additionnel.
- **Lot AS1** : 25 poulets ont été inoculés par voie aérosol avec une dose d'*E. Coli* O78K80 titrant  $10^7$  CFU/ml avec un stress additionnel (retrait d'aliment, d'eau et présence d'ammoniac 50 PPM dans l'ambiance) .
- **Lot AS2** : 25 poulets ont été inoculés par voie aérosol avec une dose d'*E. Coli* O78K80 titrant  $10^8$  CFU/ml avec un stress additionnel (retrait d'aliment, d'eau et présence d'ammoniac 50 PPM dans l'ambiance) .
- **Lot I** : 25 poulets ont été inoculés par voie intramusculaire avec une dose d'*E. Coli* O78K80 titrant  $10^7$  CFU/ml et sans stress additionnel.
- **Lot O** : 25 poulets utilisés comme témoins négatifs qui n'ont subis qu'un stress (retrait d'aliment et d'eau) et sans inoculation par la souche d'*E. Coli* O78K80.

### 1.2.3 Stress

- J-4 : Introduction des animaux
  - J-1 : Les poulets des lots O, AS1, AS2 ont subis un stress : retrait d'aliment de 8 à 14h ou 20h (selon réponse), la concentration d'Ammoniac 50 PPM dans l'ambiance de 8h à 12h ou 14h, Suppression de l'eau d'abreuvement à 20h
  - à J0 : une inoculation a eu lieu pour tous les poulets à 8h du matin, les lots A1, A2, AS1, AS2 ont été Inoculés par voie aérosol, le lot I a été Inoculé par voie IM.
  - Remettre l'eau à 12h ou 16h pour les lots O, AS1, AS2.
- L'utilisation de l'aérosol a nécessité de calculer le volume de l'inoculum à aérosoliser, la pression de dispersion, le temps de dispersion, la hauteur à respecter au dessus des oiseaux.
- Différents essais de dispersion et le relevé des recommandations formulées par Intervet pour les vaccinations en aviculture par ce moyen nous ont conduit à répartir les doses de colibacilles à inoculer par lot sous un volume de 125 ml appliqué en 30 secondes sur 25

poulets répartis sur 5 m<sup>2</sup> à 30 cm au dessus d’eux avec une température ambiante de 17°C, ventilation arrêtée.

D’après les indications du fabricant de l’appareil utilisé pour la production de l’aérosol, la taille moyenne des gouttelettes était de 20µ. La dose totale dispersée en aérosol était 10 fois la dose théorique efficace par voie intramusculaire.

**Tableau n°01** Lots d’essai (Modalités d’administration)

Lot	O	I	A1	A2	AS1	AS2
Inoculation	-	IM	Aérosol	Aérosol	Aérosol	Aérosol
Doses O78K80	Témoin négatif	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>
Stress	+	-	-	-	+	+
Nbre animaux	25	25	25	25	25	25

#### 1.2.4 Critères de suivi et d’enregistrer

Une fiche d’enregistrement spécifique par lot était établit pour chaque critère.

- **Poids** : J0 à J fin (par lot)

- **Morbidité** : enregistrement quotidien par lot : Du nombre de malade et de la nature des symptômes (généraux, respiratoires, digestifs, nerveux, locomoteurs)

- Notation de la morbidité de 0 à 4

Note 0 : Animal normal

Note 1 : Abattu

Note 2 : Abattu, œil mi-clos, couché, déplacement spontané

Note 3 : Idem 2, se déplace si sollicité

Note 4 : Idem 3, ne se déplace plus quand sollicité

- **Mortalité** : enregistrement quotidien du nombre de morts par lot

- Consommation d’eau :

▪ Lots A1, A2, AS1 : Litre / lot

▪ Lots O, I, AS2 :

- à relever toutes les 4h entre 8h et 20h (8h, 12h, 16h, 20h)

- observer 2 fois par jour, à compter de J1, pendant 30 minutes chacun des lots

- **Lot O** : 8h et 11h 30, **Lot I** : 8h 30 et 12h, **Lot AS2**: 9h et 12h 30, de façon à noter le nombre et l'état clinique des sujets venant boire.

- **Consommation d'aliment** : Kg / lot / durée de l'essai

- **Lésions** : enregistrement suivant une grille de notation permettant de calculer un score lésionnel chez : Les animaux morts en cours d'essai et les animaux euthanasies en fin d'essai.

- Notation des lésions de 0 à 4

Note 0 : état normal

Note 1 : discrètes flammèches de fibrine (foie, cœur) ou légère opalescence (sacs aériens)

Note 2 : fibrine ne recouvrant pas tout l'organe 65 | faible épaisseur (foie, cœur)  
début de dépôt de fibrine (sacs aériens)

Note 3 : fibrine recouvrant tout l'organe sur une faible épaisseur (foie, cœur), dépôt de fibrine étendu (sacs aériens)

Note 4 : fibrine recouvrant tout l'organe sur une forte épaisseur (foie, cœur), dépôt de fibrine recouvrant complètement les sacs aériens

### 1.2.5 Analyses du laboratoire

- Bactériologie à partir des 2 premiers sujets morts des groupes inoculés et s'il y a lieu des 2 premiers morts du groupe O.

## 2. Résultats

- Les résultats sont présentés dans les tableaux 02 à 05, leur analyse devant permettre de définir le protocole le mieux adapté à une reproduction expérimentale sur un effectif plus important en conditions d'élevage.

**Tableau n°02** Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai (Lot I)

N° Animal	Date mort	Etat général	Poids	Observations	Péricarde	Foie	Sacs aériens	Note moyenne individuelle
3896	J5	M	815g		4	4	4	4.0
3878	J5	M	868g		4	4	4	4.0
Sans n°	J5	M	841g		4	4	4	4.0
3883	J5	M	1013g		4	4	4	4.0
3876	J5	M	791g		4	4	4	4.0
3866	J6	M	770g		4	3	3	3.3
3888	J6	BM	1080g	Péritonite	4	4	4	4.0
3885	J6	m	900g		4	4	4	4.0
Moyenne /Lot								3.9
Ecart Type								0.24

Notation : O : Normal 1 : Léger 2 : Moyen 3 : Intense 4 : Très intense et étendu  
 B : Bon BM : Bon – TB : B+ M : Mauvais

**Tableau n°03** Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai (Lot AS1)

66

N° Animal	Date mort	Etat général	Poids	Observations	Péricarde	Foie	Sacs aériens	Note moyenne individuelle
3955	J2	BM	725g	Coccidiose++	0	0	0	0
Moyenne/Lot								0
Ecart type								0

**Notation** : O : Normal 1 : Léger 2 : Moyen 3 : Intense 4 : Très intense et étendu

**Tableau n°04** Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai et ceux euthanasiés à J6 (Lot I)



N° Animal	Etat général	Observations	Péricarde	Foie	Sacs aériens	Note moyenne individuelle
3866	M	Mort j6	4	3	3	3.3
3876	M	Mort j5	4	4	4	4.0
3878	M	Mort j5	4	4	4	4.0
3879	M		4	3	1	2.7
3880	BM	Inoculation 0	0	0	0	0.0
3881	B		4	4	2	3.3
3882	B		1	0	1	0.7
3883	M	Mort j5	4	4	4	4.0
3884	TB		2	2	2	2.0
3885	M	Mort j6	4	4	4	4.0
3887	BM		0	1	1	0.7
3888	BM	Mort j6	4	4	4	4.0
3889	M	Inoculation 3	0	0	1	0.3
3890	BM		4	3	2	3.0
3891	M	Inoculation 0	0	0	0	0.0
3892	TB	proventriculite	0	0	0	0.0
3893	BM	Inoculation 4	0	0	0	0.0
3894	B	1100g	4	4	4	4.0
3895	BM		4	0	1	1.7
3896	M	Mort j5	4	4	4	4.0
3897	BM		0	0	1	0.3
3898	TB	Inoculation 0	0	0	0	0.0
3899	B	Bursite	0	0	0	0.0
3900	TB		3	2	2	2.3
Sans n°	M	Mort j5	4	4	4	4.0
Moyenne/Lot			2.3	2.0	2.0	2.1
Ecart type			1.91	1.83	1.62	1.71

**Notation** : O : Normal 1 : Léger 2 : Moyen 3 : Intense 4 : Très intense et étendu

B : Bon      BM : Bon –      TB : B+      M : Mauvai

**Tableau n°05** récapitulatif des résultats de l'essai

	Lot O	Lot I	Lot A1	Lot A2	Lot As1	Lot AS2
Effectif initial	25	25	25	25	25	25
Effectif final	25	17	25	25	24	25
Nbre de morts	0	8	0	0	1	0
% de mortalité	0%	32%	0%	0%	4%	0%
Score lésionnel (moyenne total lot)	-	2.1	-	-	0	-
Score lésionnel (moyenne poulets survivants)	0	1.2	0.2	0	0	0
Score lésionnel (moyenne poulets morts)	-	3.9	-	-	0	-
Ecart Type(moyenne)	-	0.24	-	-	0	-

poulets morts)						
Consommation, Aliment Pi Pf	35.5 12.5	25 13.5	35 11.1	35 11	35.6 12.1	35.4 14
Consommation, aliment (total Kg)	23	11.5	23.9	24	23.4	21.4
Consommation / poulet / jour (Kg)	0.153	0.079	0.159	0.160	0.160	0.143
Croissance Pi	22.2	21.9	22.4	21.9	20.9	21.7
Pf	35.8	29.3	37.9	37.5	33.4	34.3
Total	13.6	7.4	15.5	15.6	12.5	12.6
Croissance totale : Pi- (pf + P morts) (Kg)	8.5	4.44	9.3	9.36	7.5	7.56
IC	2.71	2.59	2.57	2.56	3.12	2.83
Volume total abreuvement (L)	43.6	22.6	39.2	41.4	44.9	37.3
Abreuvement / poulet / J (L)	0.291	0.156	0.261	0.276	0.308	0.249
Q Eau / Q aliment	1.90	1.97	1.64	1.73	1.92	1.74

## 2.1 Mortalité

La mortalité enregistrée chez les animaux infectés par voie intramusculaire, aérosol et non stressés (Lot I, A1 et A2) était supérieur (08 morts sur 75 animaux ) à celle enregistrée chez les animaux infectés par voie aérosol et stressés (Lot AS1 et AS2) (01 morts sur 50 animaux).

L'étude statistique réalisée sur le critère de la <sup>68</sup> té suivant le test de Student montre qu'il y a une différence très significative  $T = 0.94445$

## 2.2 Score lésionnel

La dose d' *E. Coli* inoculée par voie intramusculaire a bien été assimilée et totalement par les animaux ce qui a permis de dépasser ces moyens de défenses naturelles donnant ainsi au moment de l'autopsie des lésions notés à 04: fibrine recouvrant tout l'organe sur une forte épaisseur (foie, cœur) et un dépôt de fibrine recouvrant complètement les sacs aériens (voir tableau 03, 04 et 05) , par contre la dose administrée par voie aérosol n'a

pas été totalement inhalée par les animaux car au moment de l'inoculation certaines gouttelettes se dispersent automatiquement donnant ainsi des animaux infectés, moins infectés et d'autres carrément pas infectés ce qui explique la faible mortalité enregistrée.

### **3. Discussion**

#### **3.1 Reproduction de la colibacillose**

##### **- Lot I :**

- La reproduction par voie intramusculaire a très bien réussi
- Pas de mortalité avant J5
- 32% de morts au total
- Score lésionnel 3.9 (sujets morts pendant l'essai) et 1.2 (survivants) (Tableau n°2)
- Réduction de 50% de la consommation alimentaire et d'eau par rapport au témoin

##### **- Lot témoin (Lot O)**

- Aucune morbidité, ni mortalité, malgré le stress (ammoniac, retrait temporaire d'aliment et d'eau auquel il a été soumis comme les lots AS1 et AS2
  - Les résultats zootechniques (consommation d'aliment, d'eau, croissance, IC) sont conformes aux prévisions compte tenu, des caractéristiques de l'aliment, de la densité des animaux (10 par mètre carré) et de la température du local (17°).
- On notera le rapport de 2 existant entre la consommation d'eau et d'aliment

69

##### **- Lots A1 et A2 : Infectés par voie aérosol (دوسه ٢ et dose 2)**

- Les résultats zootechniques équivalents et même supérieurs à ceux des témoins
- L'infection n'a eu aucune conséquence sur les performances
- Une discrète morbidité a été notée à J2 et J3 pour s'estomper à J4 et disparaître ensuite (lot A1)
- Il n'y a pas eu de mortalité et le score lésionnel est de 0.2 (lot A1) et 0 (lot A2), très insuffisant pour être utilisé pour des essais de traitement. (Tableau n°2)

- **Lots AS1 et AS2** : Infectés avec stress adjuvant (dose 1 et dose 2) (Tableau n°2).
- Les résultats cliniques sont comparables à ceux des lots A1 et A2
- Discrète morbidité à partir de J2 persistant jusqu'à J5 (lot AS2) ou diminuant progressivement pour disparaître à J5
- Un seul mort (lot AS1) lié à une coccidiose
- Le score lésionnel de ces deux lots est de 0
- L'infection et le stress ont eu cependant des conséquences sur les performances zootechniques (croissance total et IC)
- Ces performances sont inférieures à celle des témoins mais cependant difficile à exploiter dans le cadre d'un essai thérapeutique.

### 3.2 Discussion du protocole

L'infection par voie aérosol avec ou sans stress a donc échoué, ce qui amène à discuter les différents paramètres de l'essai.

#### Influence de la souche et de la dose d'infection

La souche utilisée est efficace cf. résultats obtenus par voie IM (lot I), la dose utilisée en aérosol est près de 100 fois supérieure à celle utilisée par voie IM.

Malgré une pression d'infection élevée avec une souche active, celle-ci n'avait pu dépasser les moyens de défenses naturelles des oiseaux insuffisamment réduite par le confinement 12h à 50 PPM d'ammoniac (effet local sur les muqueuses respiratoires) et par les stress de privation temporaire d'aliment puis d'eau (effet dépresseur sur les moyens de défenses généraux).

La dose infectante n'a donc pas réussi à forcer la porte séparant le milieu extérieur du tractus respiratoire profond de l'oiseau, sans  $10^{-7}$  confinement ammoniacal a réduit l'efficacité de l'épuration muco-ciliaire mais cela n'a pas été suffisant.

Il est probable que la perméabilité à l'infection ne peut être obtenue que par le passage préalable d'un virus à tropisme respiratoire provoquant une altération profonde des muqueuses respiratoires ( ex : Virus de BI ou de la maladie de Newcastle) (Nakamura et all.,1992, Nakamura et all.,1994, Lecoanet .J.,1992)

### 3.3 Analyse statistique

L'analyse statistique effectuée sur les différents lots est un test de Student pour le cas des échantillons indépendants.

Les lots infectés et stressés ont enregistré un mort sur 50 animaux (soit une fréquence de 2%, lots AS1 et AS2).

Les lots I, A1 et A2 infectés et non stressés ont enregistrés 08 morts sur 75 animaux (soit une fréquence de 10,67%).

L'étude statistique réalisée suivant le test de Student montre qu'il y a une différence très significative entre les deux échantillons  $t=0,94445$  ( $p<0.05$ ).

La mortalité enregistrée chez les animaux infectés par voie intramusculaire et non stressés (Lot I) était significativement supérieure à celle enregistrée chez les animaux infectés par voie aérosol et stressés (Lot AS1).

La dose d'*E. coli* inoculée par voie intramusculaire a bien été administrée et totalement par les animaux ; ce qui a permis de dépasser leurs moyens de défenses naturelles. Cependant, la dose administrée par voie aérosol n'a pas été totalement inhalée par les animaux car au moment de l'inoculation certaines gouttelettes se dispersent donnant ainsi des animaux infectés, moins infectés et d'autres totalement pas infectés ce qui explique la faible mortalité enregistrée dans ce cas.

La voie aérosol ne permet pas d'inoculer la quantité escomptée pour atteindre l'objectif visé à savoir l'installation de la contamination voire l'infection.

#### **4 Conclusion et recommandations**

71

Il ressort des résultats de l'essai effectué sur la comparaison des effets de l'inoculation de la souche d' *E. Coli* de sérotype O78K80 administrée avec deux doses ( $10^7$  et  $10^8$  CFU/MI) et par deux voies (aérosol et IM) sur des poulets âgés de trois semaines combinées avec ou sans stress additionnel (retrait temporaire d'eau et d'aliment, ammoniac), que Seul le lot I inoculé par voie IM a présenté des troubles subcliniques avec détérioration des indices de performances (croissance et IC).

Des taux de mortalité significativement différents ont également été observés entre deux échantillons distincts (éch1 = lots AS1 et AS2 et éch2 = lots I, A1 et A2). La mortalité élevée serait due au mode d'administration et à la quantité de l'inoculum ; car dans le cas de l'aérosol, nous avons noté une perte considérable, sous forme de gouttelettes, de l'inoculum.

Lors d'un prochain essai, il faut essayer de voir les effets de l'inoculation de la souche d' *E. Coli* sérotype O78K80 sur des poulets préalablement infectés par des virus immunodépresseurs(Ex : virus de la Bronchite infectieuse ou de la maladie de Newcastle). (Gjeissing et all.,1988, Lecoanet. J,1992)

## **CHAPITRE II**

***Reproduction expérimentale  
d'une colibacillose chez le poulet  
Efficacité comparée d'une Fluméquine par  
rapport à une Enrofloxacin de Référence  
dans le traitement de cette pathologie***

# Objectif

Démontrer l'équivalence d'efficacité d'une Fluméquine par rapport à une Enrofloxacin de référence dans le traitement d'une colibacillose aviaire expérimentale.

## 1. Principes généraux

73

Trois lots de 100 poulets de 3 semaines inoculés à j0 par voie IM avec une souche de Colibacille aviaire 078 k80 ont été répartis en 3 lots de traitement :

- F : Fluméquine
- B : Enrofloxacin
- I : Absence de traitement (témoin inoculé)



- E : Un 4ème lot de 50 poulets de même origine a servi de témoin élevage.
- Deux périodes de suivi clinique ont été distinguées :
  - période de traitement : j1 - j5
  - période post traitement : j6 - j9 et non pas j10 comme indiquée au protocole initial, j10 tombant un jour férié.
- Critères de suivi pour la comparaison d'efficacité : morbidité, mortalité, clinique et lésions (score lésionnel), poids, consommation alimentaire, niveau d'abreuvement.
- L'étude s'est déroulée en accord avec les bonnes pratiques de laboratoire, selon les directives 87/18/CEE et 88/320/CEE des Communautés Européennes,
- Expérimentation animale effectuée à l'ENV Lyon :
- Les analyses bactériologiques ont été effectuées dans le laboratoire de bactériologie du Service de Pathologie du Bétail,
- Les statistiques ont été effectuées par le service de Biostatistiques de SSNA (SANOFI Santé Nutrition Animale),
- L'ensemble de l'étude a été placé sous le contrôle de l'Assurance Qualité de SANOFI qui a effectué les audits nécessaires :

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Matériels

#### 2.1.1 Produits en étude

##### Produit testé (GROUPE F)

- |                  |    |   |
|------------------|----|---|
| - Matière active |    | : fluméquine 100 g / 1000 ml  |
| - Formulation    |    | : solution  |
| - Numéro de lot  | 74 | : 180 A3  |
| - Fabricant      |    | : SANOFI Santé Nutrition Animale, ZI<br>La Ballastière B.P. 126,<br>33 501 LIBOURNE Cédex, France |
| - Posologie      |    | : 18 mg / kg / jour   |
| - Administration |    | : orale, en continu dans l'eau de<br>boisson  |

- Durée d'administration : 5 jours, de j1 à j5

#### Produit de référence (GROUPE B)

- Matière active : Enrofloxacin 100 g / 1000 ml  
- Formulation : solution  
- Numéro de lot : MF8911  
- Fabricant : BAYER  
- Posologie : 10 mg / kg / jour  
- Administration : orale, en continu dans l'eau de  
boisson  
- Durée d'administration : 5 jours, de j1 à j5

### 2.1.2 Animaux et Animalerie

#### 2.1.2.1 Poulets

. Ross jaune

. Sexe : mâle et femelle, répartition équilibrée obtenue par prélèvement au hasard dans le parquet d'origine.

. Age : 21 jours à l'entrée dans l'essai,

. Identification individuelle par bague alaire numérotée,

. Contrôle sanitaire à l'entrée : état clinique individuel au moment de l'identification, contrôle nécropsique sur 5 animaux par lot, parasitologie digestive et recherche d'infection salmonellique, qui devait être négative pour l'inclusion dans l'essai.

. Ces contrôles ont permis de constater une coccidiose caecale justifiant un traitement de tous les lots dans l'eau de boisson pendant deux jours avec du Toltrazuril (Baycox ND) suivant les indications du fabricant.

75

La recherche de Salmonelle effectuée par examen de 5 intestins et de 5 foies par lot s'est avérée négative.

#### 2.1.2.2 Animalerie

- Box séparé pour chaque lot (ventilation statique)

- Litière : copeaux
- Densité : 15 animaux par m<sup>2</sup>
- Matériel d'élevage :
- chauffage : non nécessaire,
- trémie et abreuvoirs siphoniques en nombre approprié à raison d'une trémie et d'un abreuvoir pour 50 animaux,
- Aliment du commerce sans additif autre que l'anticoccidien (Amprolium).

## 2.2 Méthodes

### 2.2.1 Constitution des lots et traitement

- 3 lots de 100 poulets inoculés à j0 : F, B, I
- 1 lot témoin élevage de 50 poulets :

#### 2.2.1.1 Inoculation

- Souche de Escherichia coli septicémique aviaire sérotype 078-k 80, sensible à la fluméquine et à l'enrofloxacin. Il s'agit d'une souche isolée d'un cas spontané de Colisepticémie du poulet conservée dans la souchothèque de notre laboratoire. La sensibilité de la souche utilisée vis à vis de la fluméquine et de l'enrofloxacin a été déterminée par SSNA vis à vis de l'enrofloxacin  
 CMI = 0,03 µg/ml CMB = 0,06 µg/ml de la Fluméquine CMI = 0,5 µg/ml  
 CMB = 1 µg/ml

- **Inoculum** : Suspension initiale nécessaire, préparée en un seul lot, contrôlée (identité, pureté), titrée et congelée à - 80°C en aliquote de 5 ml.

- **Dose et voie** : la dose inoculée avait été déterminée lors de précédents essais de façon à provoquer 30 % de mortalité en 5 jours ( $D_{50} = 76^{-1}$ ), pas de mortalité à j0 et moins de 5 % à j1. L'inoculation a eu lieu par voie intramusculaire, dans les muscles du bréchet sous un volume de 0,1 ml.

#### 2.2.1.2 Traitement

- **1er lot : lot F** : fluméquine dans l'eau de boisson en continu, à la posologie de 18 mg/kg/24 heures. La distribution a commencé 24 h après l'inoculation et a continué jusqu'à j5 compris ; soit de j1 à j5.

L'eau médicamenteuse était présentée dans des abreuvoirs siphoniques d'une capacité suffisante pour couvrir les besoins d'abreuvement des animaux pendant 24 h. Elle était renouvelée tous les jours. Les quantités bues étaient calculées par différence entre le volume initial et le volume restant.

- **2ème lot : lot B** : Enrofloxacin dans l'eau de boisson en continu à la posologie de 10 mg/kg/24 heures dans les mêmes conditions que pour le lot F.

- **3ème lot : lot I** : lot inoculé, non traité (témoin négatif).

- **4ème lot : lot E** : lot témoin élevage - non inoculé, non traité.  
Il permettait de vérifier l'absence de maladie intercurrente.

### **2.2.1.3 Administration des traitements**

Les traitements ont été administrés comme prévu au protocole initial en se référant au poids calculé des animaux présents et à la consommation réelle d'eau le jour précédent.

A j1, la consommation d'eau prévue fut celle de j0 diminuée de 25 % pour tenir compte de la morbidité.

L'ensemble des données du calcul des doses de traitement, des volumes de répartition et des quantités réellement prises est indiqué dans le tableau récapitulatif joint à l'annexe n° 01.

### **2.2.1.4 Commentaires**

77

- A j1 la prise thérapeutique n'est que de 66 % pour le lot F et 55 % pour le lot B du fait d'une réduction de la consommation d'eau de 50 % au lieu des 25 % prévus, du fait de la sévérité de l'épreuve.

En réalité, le sous dosage thérapeutique à j1 est bien moindre que ce qui est suggéré par les chiffres car dans la réalité les animaux les plus fortement atteints ne se déplacent même plus pour aller boire. Ce sont les futurs morts de j2.

En tout état de cause, le sous dosage est du même ordre de grandeur pour les deux lots.

- A j2, c'est l'inverse qui se produit, le rétablissement des animaux et la disparition de ceux qui ne buvaient plus (cf. ci-dessus) conduisent à une surconsommation d'eau par rapport aux prévisions et à un surdosage thérapeutique, du même ordre pour les deux lots : 1,54 et 1,64 respectivement pour les lots F et B.

- De j3 à j5, le rétablissement des animaux s'accompagne d'une régularisation de l'ingéré hydrique et les prises thérapeutiques pratiquement identiques pour les deux lots, sont voisines de l'objectif.

En résumé, les posologies administrées aux deux lots de j1 à j5 restent comparables car les écarts d'ingéré entre le prévu et le constaté sont identiques pour les deux lots.

## 2.2.2 Déroulement de l'essai, critères de suivi et enregistrement

### 2.2.2.1 Déroulement de l'essai

L'essai a comporté 3 phases :

- phase d'adaptation à l'animalerie limité à 24 h pour des raisons de calendrier (jour férié)
- phase d'inoculation / traitement : j0 - j5,
- phase post-traitement : j6 - j9 au lieu de j10 pour des raisons de calendrier (jour férié)
- A j9, tous les animaux survivants ont été euthanasiés par injection intraveineuse de pentobarbital sodique et autopsiés.

#### - Tableau récapitulatif du protocole 78

**Tableau 01**

<b>LOTS</b>	<b>F</b>	<b>B</b>	<b>I</b>	<b>E</b>
Nbre de poulets	100	100	100	100
Adaptation	j-3 à j0	j-3 à j0	j-3 à j0	j-3 à j0
Inoculation <i>E.Coli</i>	J0	J0	J0	-
Traitement	J1 à j5 Flumequine	J1 à j5 Enrofloxacine	-	-
Enregistrement				
1 <sup>re</sup> phase	J0 à j5	J0 à j5	J0 à j5	J0 à j5
2 <sup>ème</sup> phase	J6 à j10	J6 à j10	J6 à j10	J6 à j10

Euthanasie/Autopsie	J10	J10	J10	J10
---------------------	-----	-----	-----	-----

## 2.2.2.2 Critères de suivi

### 2.2.2.2.1 Morbidité

- . enregistrement quotidien par lot suivant une grille de suivi :
- . nombre de malades,
- . nature des symptômes (généraux, respiratoires, digestifs, nerveux, locomoteurs),
- . Score de morbidité

### 2.2.2.2.2 Mortalité quotidienne, cumulée

- Lésions enregistrement suivant grille de notation permettant de calculer pour chaque lot un score lésionnel chez :

- \* animaux morts en cours d'essai
- \* animaux euthanasiés en fin d'essai (j9)

**2.2.2.2.3 Score lésionnel** : Notation indépendante de 0 à 4 pour le foie le coeur/péricarde et les sacs aériens. Le score est le total des 3 notes d'organes, le minimum étant 0 et le maximum 12, et non pas 9 comme indiqué dans le protocole initial où la notation avait été par erreur prévue de 0 à 3.

## Notation des lésions de 0 à 4

79

- Note 0 : état normal,
- Note 1 : discrètes flammèches de fibrine (foie, coeur) ou légère opalescence (sacs aériens),
- Note 2 : fibrine ne recouvrant pas tout l'organe ou en faible épaisseur (foie, coeur), début de dépôt de fibrine (sacs aériens),
- Note 3 : fibrine recouvrant tout l'organe sur une faible épaisseur (foie, coeur), dépôt de fibrine étendu (sacs aériens).
- Note 4 : fibrine recouvrant tout l'organe sur une forte épaisseur (foie, coeur), (dépôt de fibrine recouvrant complètement les sacs aériens).

#### **2.2.2.2.4 Poids j0 - j9 par lot : pesée individuelle**

#### **2.2.2.2.5 Consommations**

\* eau : volume quotidien par lot,

\* aliment : quantité par lot j0 - j5 et j6 - j9

#### **2.2.3 Analyses de laboratoire**

- Bactériologie de contrôle à partir des deux premiers sujets morts dans chacun des lots.

#### **2.2.4 Analyse statistique et interprétation des résultats**

L'analyse des résultats a été faite en deux étapes :

- Validation des conditions expérimentales par comparaison du lot E au lot I, le lot E ne devant rien révéler d'anormal et le lot I une mortalité de l'ordre de 30 %.

- Evaluation de l'efficacité par comparaison des 3 lots, F, B et I.

Les paramètres suivants seront étudiés :

- Mortalité cumulée de J0 à J5 (fin du traitement) : test du X<sup>2</sup>

- Mortalité cumulée de J0 à j9 : test du X<sup>2</sup>

- Score lésionnel des animaux survivants à j9 et sacrifiés : ANOVA

- Score lésionnel des animaux morts : ANOVA (ce critère n'a pas de signification du point de vue de l'efficacité), 80

- Morbidité cumulée (nombre de malades-jours) porté aux nombre d'animaux-jours) de J0 à J5 (fin du traitement) : test du X<sup>2</sup>

- Poids à J9 par ANOVA avec covariant le poids à J0

Les tests ont été faits au risque de première espèce  $\alpha = 5\%$  et de formulation bilatérale,

Les conditions d'application de chaque test ont été vérifiées,

Ils ont été effectués avec le logiciel BMDP (BMDP Statistical Software, Inc. 144 Sepulvea Boulevard, Suite 316 Los Angeles, CA 90025).

### **3. Résultats et discussion**

Le récapitulatif des résultats de mortalité, morbidité, score lésionnel, croissance, consommation d'eau et d'aliment est présenté dans le tableau n° 2

Tableau N° **tableau 02** : Résultats récapitulatifs des consommations d'eau et d'aliment, de la croissance des quatre lots pour chacune des périodes suivies

	Lot F			Lot B			Lot i			Lot E		
	J0-J5	J6-J9	J0-J9	J0-J5	J6-J9	J0-J9	J0-J5	J6-J9	J0-J9	J0-J5	J6-J9	J0-J9
Nbre j*poulets	357	117	474	331	102	433	326	75	401	300	150	450
Total Eau	35,2	24,3	59,5	29,5	20,2	49,7	24,8	11,9	36,7	54,4	34,6	89
Eau/poulet*j	0,099	0,208	0,126	0,089	0,198	0,115	0,076	0,159	0,092	0,181	0,231	0,198
% Lot E	54	90	63	49	86	58	42	69	46	100	100	100
Total Alim	22,3	16,1	38,4	21,8	13,5	35,3	17,5	8,5	26	37,7	21,5	59,2
Alim/poulet*j	0,062	0,138	0,081	0,066	0,132	0,082	0,054	0,113	0,065	0,126	0,143	0,132
% Lot E	50	96	62	52	92	62	43	79	49	100	100	100
CroîtTotal (Vivants)			12			10,7			4,9			25,2
Indice Consommation			3,2			3,3			5,3			2,3

L'analyse bactériologique de contrôle réalisée sur les deux premiers animaux morts de chacun des lots inoculés a conduit dans chaque cas à l'isolement du

Colibacille inoculé en culture pure et abondante. L'identité de souche avec l'inoculum a été déduite de la comparaison des profils d'antibiogramme.

L'analyse statistique des résultats a été réalisée en conformité avec les procédures de bonnes pratiques de laboratoire par SSNA. le jour fin d'essai est désigné j10 comme cela était prévu au protocole initial. En réalité, il convient à chaque fois de lire j9 qui est la date effective de fin d'essai imposée par des contraintes de planning (jour férié).

### 3.1 Mortalité

La mortalité cumulée à j5 et à j9 est présentée dans le tableau n° 3 ci-dessous ainsi que la mortalité j0-j1 (9 h).

**Tableau n° 3 : mortalité cumulée à j5 et j9 pour chacun des 4 lots**



	Lot E	Lot F	Lot B	Lot I
j1(9h)	0/50	17/100	27/100	17/100
j5	0/50	61/100	65/100	72/100
j9	0/50	61/100	66/100	76/100

Lot E : Il n'a été enregistré aucune mortalité dans ce lot (témoin élevage) pendant toute la durée de l'essai. Les troubles et la mortalité constatés dans les autres lots sont donc à rapporter à l'infection expérimentale elle-même.

### Comparaison des mortalités cumulées à j5 à j9

Il n'a pas été mis en évidence de différence statistiquement significative entre les taux de mortalité cumulée à j5 (P = 0,25) et à j9 (P = 0,07).

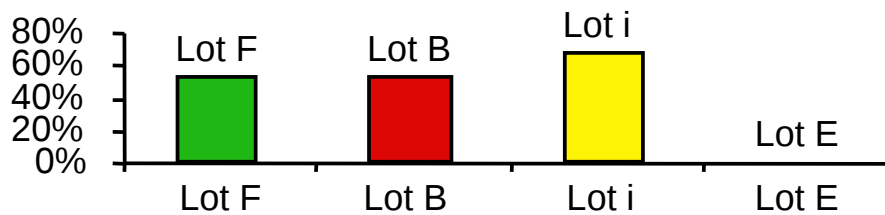
- La mortalité avant traitement entre j0 et j1 (9 h) a été supérieure à ce qui était espéré, respectivement : 17 %, 27 % et 17 % pour les lots F, B, I. Consécutivement, il a été décidé d'effectuer les comparaisons de mortalité sur la période de traitement j1 - j5 en excluant la mortalité j0 - j1 (9 h).

- La mortalité cumulée j1 - j5 et j1 - j9 f 82 sur le tableau récapitulatif n° 4 et les graphiques n° 1 et 2.

**Tableau n°4** : mortalité cumulée à j5 et j9 à partir de j1 (9 h) pour chacun des 3 lots

	Lot F		Lot B		Lot I	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
j1 - j5	44	53	38	52	55	66
j1 - j9	44	53	39	53	59	72

**Graphique N°1 : Mortalité par lot de J1 à J5**



**Graphique N°2 : Mortalité par lot de J1 à J9**



La mortalité de j1 à j5 est de 53 %, 52 % et 66 % respectivement pour les lots F, B, I. Bien que le taux du lot I (66 %) soit nettement supérieur à celui des lots F et B, la différence n'est pas statistiquement significative.

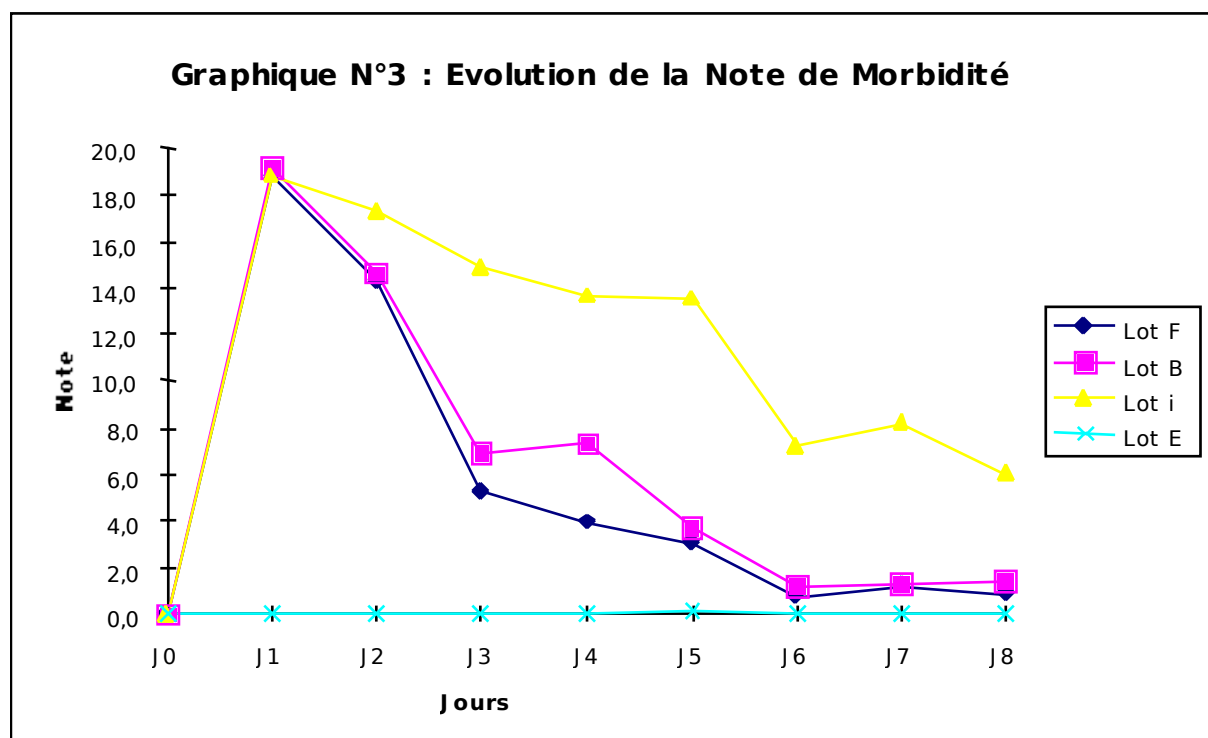
A j9, les taux de mortalité sont de 53 %, 53 % et 72 % respectivement pour les lots F, B et I. Dans ce cas, la différence entre les 2 lots traités et le lot Infecté (I) est statistiquement significative (P = 0,02).

Il n'y a pas de différence entre les deux lots traités B et F.

Sur le critère de mortalité cumulée à j9, les deux traitements B et F présentent donc une efficacité réelle et équivalente.

### 3.2 Morbidité

La notation à 5 classes (0 à 4) de la morbidité quotidienne a permis de suivre l'évolution journalière de la note moyenne de morbidité de chaque lot. Elle est représentée sur le graphique n° 3.



A j1, la note moyenne des trois lots inoculés est très élevée, voisine de 19/20 alors que le lot E ne comporte aucun trouble et n'en manifeste aucun jusqu'à la fin de l'essai.

La note moyenne de morbidité des lots B et F diminue ensuite rapidement, consécutivement au traitement, de j1 à j<sup>84</sup> un peu plus lentement de j3 à j6 avec même un léger plateau de j3 à j4 pour le lot B.

A j6 les animaux survivants des deux lots traités ne présentent pratiquement plus de morbidité.

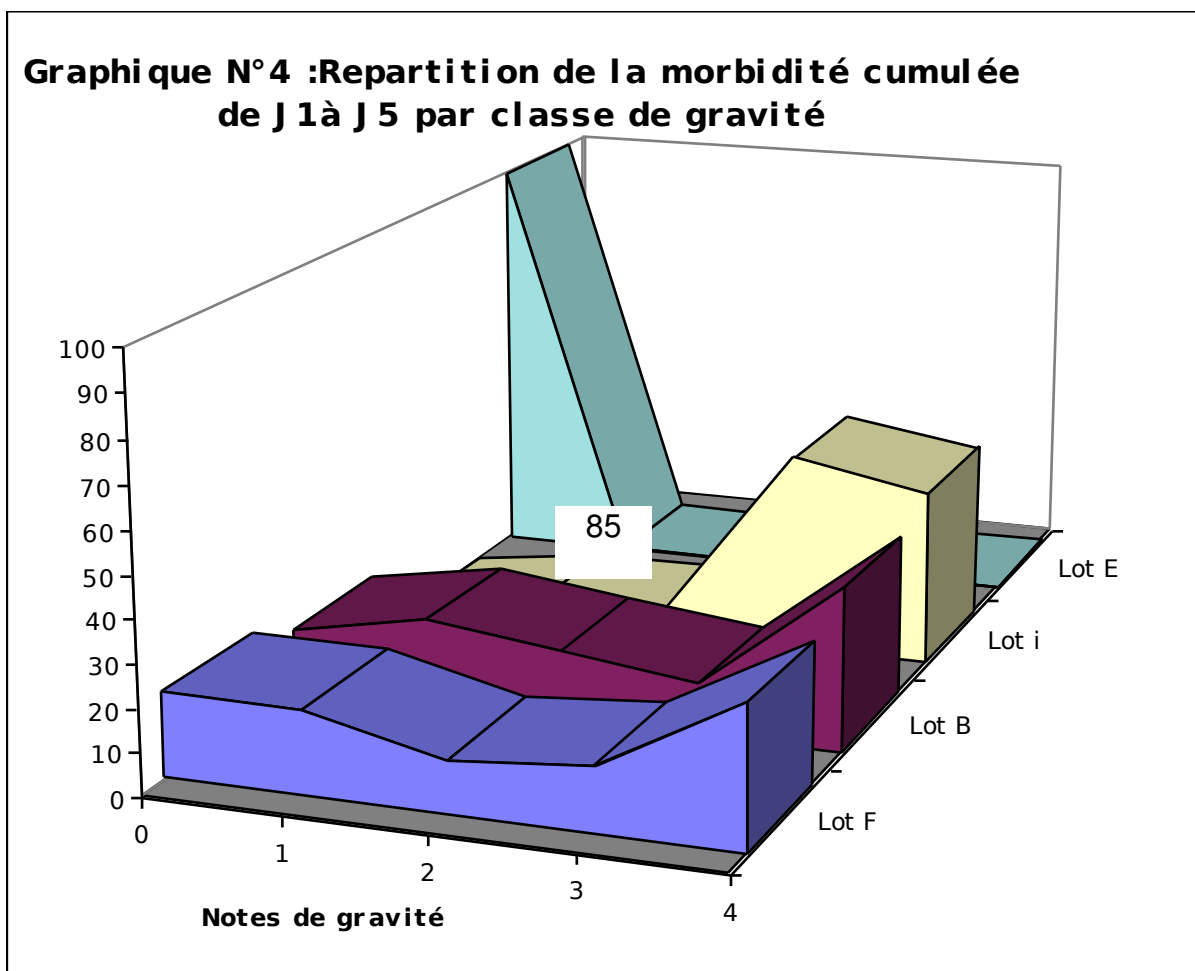
Le lot Inoculé non traité (I) obtient une note moyenne de morbidité qui reste élevée de j1 à j5 pour diminuer ensuite à partir de j6. La comparaison graphique fait bien ressortir l'équivalence des traitements B et F et la différence avec le lot I.

L'analyse statistique a porté sur la répartition de la morbidité par classe de gravité cumulée entre j1 et j5 (période de traitement).

Les résultats en nombre et en pourcentage de l'effectif présent à j1 pour chaque lot sont présentés dans le tableau récapitulatif 02, le tableau 04 et le graphique 04.

**Tableau n° 5 : Répartition de la morbidité cumulée par classe de gravité de j1 à j5**

Note	0		1		2		3		4	
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
Lot F	51	20	51	20	32	12	38	15	85	33
Lot B	32	14	46	20	37	16	28	12	88	38
Lot i	0	0	9	4	11	4,9	109	48	97	43
Lot E	249	100	1	0,4	0	0	0	0	0	0



La représentation graphique, illustre bien la similitude de la répartition des deux lots traités B et F et la différence existante avec le lot I dont 91 % de l'effectif se répartit dans les deux classes de morbidité les plus élevées.

L'analyse statistique des répartitions de morbidité met en évidence une différence significative en fonction du traitement.

La comparaison deux à deux montre :

- une différence significative entre les lots

B et I ( $P < 0,001$ )

F et I ( $P < 0,001$ )

- Il n'y a pas de différence entre les lots B et F ( $P = 0,27$ )

Les deux traitements B et F ont donc réduit fortement et rapidement la morbidité et ce de façon équivalente, alors que la morbidité est restée très fortement et significativement plus élevée dans le lot I.

### 3.3 Scores lésionnels

86

Les résultats des scores lésionnels individuels figurent sur une feuille d'enregistrement commune avec celle des poids à  $j_0$  et à  $j_{fin}$ .

#### 3.3.1 Animaux survivants

Les résultats sont présentés dans le tableau n° 6 avec la moyenne et l'écart-type mais aussi pour des raisons d'analyse statistique, en répartition par quartile.

**Tableau n° 6 : Scores lésionnels des animaux survivants**

	Lot F	Lot B	Lot I
Moyenne	0,5	0,4	1,1
Ecart-type	0,75	0,68	1,29

Minimum	0	0	0
quartile 25 %	0	0	0
Médiane	0	0	1
Quartile 75 %	2	2	7
Maximum	7	7	11

La comparaison des scores moyens semblerait indiquer une égalité entre les lots B et F dont les scores moyens apparaissent inférieurs de moitié au score moyen du lot I.

Cependant, l'analyse statistique (test de KRUSKALL-WALLIS,) ne met pas en évidence de différence significative.

### 3.3.2 Animaux morts

Les résultats sont présentés comme précédemment dans le tableau n° 7 et le test de KRUSKALL-WALLIS appliqué.

Tableau n° 7 : Scores lésionnels des a<sup>87</sup> x morts

	Lot F	Lot B	Lot I
Moyenne	1,1	0,8	1,6
Ecart-type	1,07	1,09	1,39

Minimum	0	0	0
Quartile 25 %	0	0	0
Médiane	3	0	5
Quartile 75 %	5	5	8
Maximum	10	11	12

Dans ce cas, l'analyse statistique met en évidence une différence significative entre les scores lésionnels des trois groupes ( $P = 0,002$ ).

La comparaison deux à deux indique l'équivalence des deux lots traités B et F ( $P > 0,10$ ) tandis que le lot I présente un taux de score lésionnel fort, significativement plus élevé que le lot B.

Sur le critère du score lésionnel des animaux morts, les deux traitements présentent donc une efficacité équivalente.

### 3.4 Poids

Les poids moyens à j0 et j9 des animaux des trois lots, euthanasiés à j9, sont présentés dans le tableau n° 8.

**Tableau n° 8: Poids moyen (g) des animaux des trois lots euthanasiés à j9  
(moyenne + écart type)**

	Lot F	Lot B	Lot I	Lot E
Poids j0	654 + 74	645 + 70	676 + 89	653 + 82
Poids j9	962 + 143	970 + 111	880 + 196	1156 + 151

Il n'y a pas de différence statistiquement sig<sup>88</sup> ve entre les poids moyens des trois lots à j0, la comparaison entre les 3 lots est donc possible.

A j9, on constate que le poids moyen des animaux des lots B et F est d'environ 83 % de celui du lot E alors qu'il n'est que de 76 % pour le lot I.

L'analyse statistique met en évidence une différence significative entre les poids moyens des trois lots F, B, I. ( $P < 0,001$ ).

La comparaison deux à deux montre l'absence de différence significative entre les groupes F et B et une différence statistiquement significative entre les lots B et I ( $P < 0,001$ ) ainsi qu'entre les lots F et I ( $P < 0,05$ ).

Il y a donc un effet favorable équivalent des deux traitements sur le critère poids à j9.

### **3.5 Autres critères**

D'autres critères d'évaluation qualitatifs de l'efficacité des deux traitements ont été suivis.

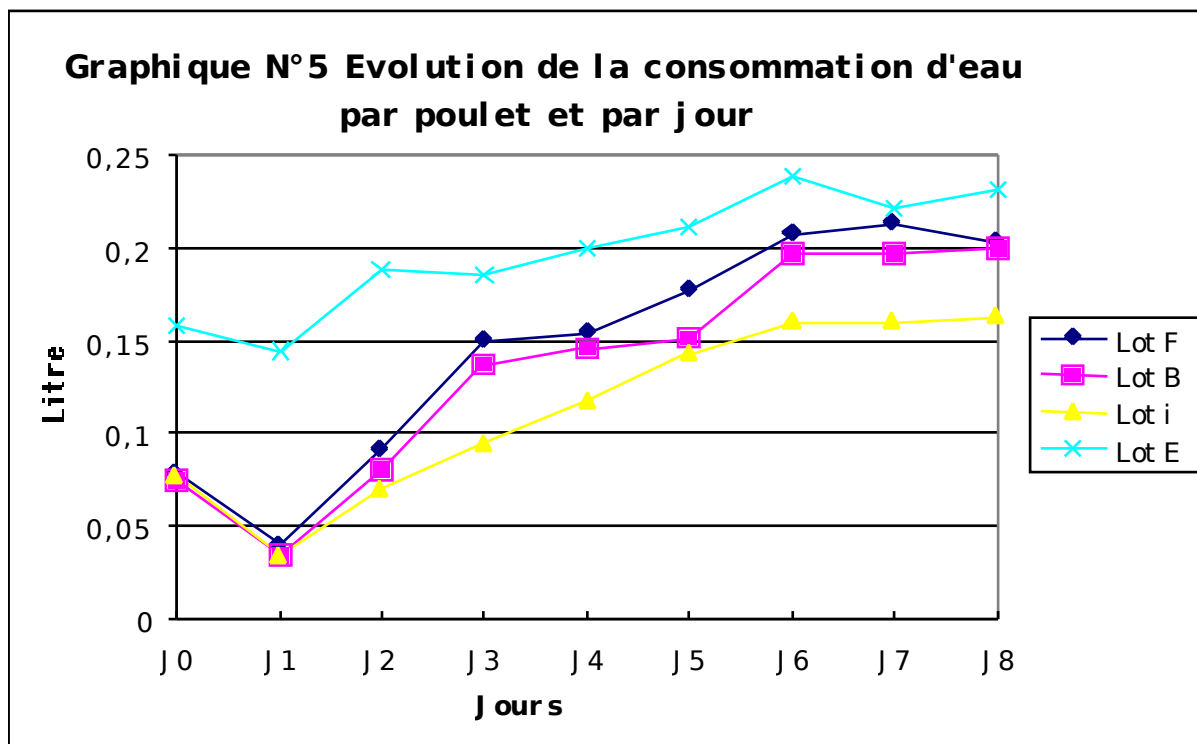
Il s'agit :

- a) des consommations d'eau et d'aliment pour les deux périodes de suivi : j0 - j5 et j9 et le cumul j0 - j9
- b) du croît total (j0 - j9) et du calcul de l'indice de consommation,

Ces données figurent sur les feuilles de suivi clinique par lot, le tableau récapitulatif n°2 et

#### **3.5.1 Consommation d'eau**

Le graphique n° 5 représente l'évolution de cette consommation par poulet et par jour, pour chacun des lots.

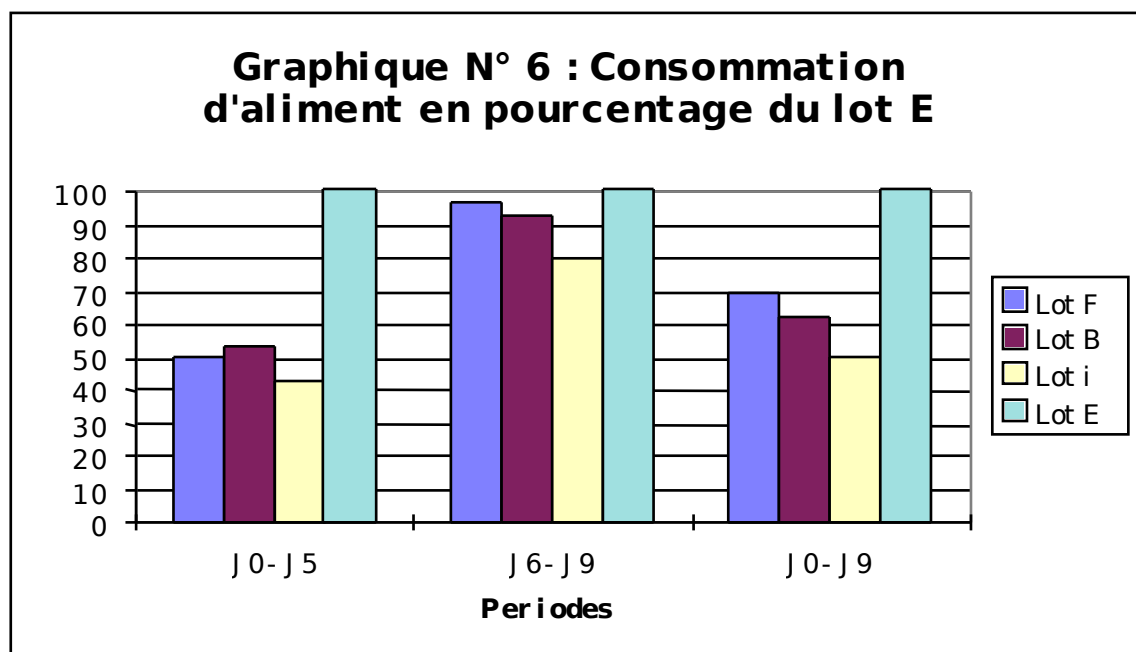


Après une chute des 2/3 de la consommation d'eau par rapport à celle du lot E (témoin) de j0 à j1, suite à l'inoculation, la consommation des deux lots traités se redresse de façon équivalente jusqu'à j3, pour atteindre les 3/4 de la consommation du lot E. Le lot I (inoculé non traité), présente une consommation qui reste en moyenne de la moitié de celle du lot E. Ces différences traduisent l'état sanitaire des animaux et illustrent l'effet des traitements qui apparaissent équivalents.

### 3.5.2 Consommation d'aliment

Les consommations d'aliment aux trois périodes considérées peuvent être comparées entre les lots à partir du graphique n° 6 sur lequel les consommations sont représentées.





La consommation du lot E est de 130 g par poulet et par jour sur la période j0 - j9. C'est une consommation normale.

#### - Période j0 - j5

La consommation des lots B et F est très voisine, elle est réduite à 50 % de celle du lot E, témoignant de la morbidité provoquée.

Elle est cependant supérieure de pratiquement 10 points à celle du lot I : 50 % versus 43 %.

#### - Période j6 - j9

Les lots B et F présentent une consommation pratiquement identique, avec un léger avantage au lot F dont la consommation atteint 96 % de celle du lot E permettant sur ce critère de dire qu'à partir de j6 les animaux des lots traités sont guéris.

Le lot I à la différence des lots traités, présente toujours une sous-consommation alimentaire. Celle-ci n'est que de 80 % de celle du lot E.

Au total, le critère consommation alimentaire est un bon critère de morbidité, le rétablissement de la consommation normale témoigne de la guérison des animaux. Sur ce critère, les deux traitements présentent une efficacité équivalente.

### 3.5.3 Croît total et indice de consommation

Le croît total j0 - j9 pour chacun des lots figure sur le tableau n° 9, ci-dessous :

**Tableau n° 9 : Récapitulatif des résultats de croissance et d'indice de consommation**

	Lot F	Lot B	Lot I	Lot E
croît (vivants)	12	10,7	4,9	25,2
croît (morts)	-4	-4,4	-6,5	-
IC (vivants)	3,2	3,3	5,3	2,3

Globalement la croissance des lots F et B est équivalente avec cependant 1 kg de plus pour le lot F.

La croissance du lot I n'est que de la moitié de celle du lot B et de 40 % de celle du lot F.

L'indice de consommation des deux lots traités F et B est pratiquement identique : 3,2, supérieur d'un point à celui du lot E, traduisant là encore la morbidité qui est intervenue de j0 à j5. Comparativement, l'indice du lot I est de 3 points supérieur à celui du lot E au lieu de 1 point pour les 2 lots traités.

Au total, sur les critères de la croissance et de l'indice de consommation, les performances des deux lots traités sont équivalentes, inférieures à celles du lot E témoin élevage, mais très supérieures à celles du lot I témoin infecté.

L'équivalence des deux traitements F et B qui apparaît ici est en accord avec les résultats des comparaisons statistiques effectuées sur les critères précédents.

## **4.1 Protocole**

- Infection d'épreuve

La dose inoculée était de  $2,8 \cdot 10^6$  CFU par poulet comme initialement déterminée pour provoquer 30 % de mortalité en 5 jours et moins de 5 % à j1. Cela n'a pas été le cas présentement pour les raisons probables suivantes :

- poulet de poids moyen de 650 g contre 800 g habituellement,
- période d'adaptation de 36 h au lieu de 3 j habituellement,
- coccidiose caecale importante qu'il a fallu traiter le jour de réception des poulets.

## **4.2 Résultats**

### **4.2.1 Mortalité**

Les mortalités importantes qui sont apparues précocement ont réduit le pouvoir discriminant du test sur le critère mortalité. Ainsi, il n'y a pas de différence entre les trois lots pour le taux de mortalité de j0 à j5, de j0 à j9 et de j1 à j5 pas plus que pour les scores lésionnels des animaux survivants à j9.

Ceci a conduit à comparer les taux de mortalité des trois lots en excluant la mortalité avant traitement. Dans ces conditions, les taux de mortalité cumulée de j1 à j9 sont comparables pour les deux lots traités, inférieurs à celui du lot I avec une différence statistiquement significative.

### **4.2.2 Morbidité**

Malgré la sévérité de l'épreuve, le taux de morbidité cumulée des deux lots traités est significativement inférieur à celui du lot I ; il est équivalent pour les lots B et F traduisant l'équivalence d'efficacité des deux traitements.

### **4.2.3 Score lésionnel**

La forte mortalité a trop réduit les effectifs pour permettre de mettre en évidence une différence statistiquement significative de scores lésionnels des animaux vivants en fin d'essai entre les lots.

Cette différence existe pour le score lésionnel des animaux morts avec un score significativement supérieur pour le lot I alors qu'il y a équivalence pour les lots B et F, ce qui traduit là encore une équivalence d'efficacité des traitements comparés.

#### **4.2.4 Poids des animaux**

Malgré la réduction des effectifs vivants en fin d'essai, une différence statistiquement significative existe entre le poids des animaux des trois lots : le poids des animaux des lots B et F est équivalent et significativement supérieur au poids des animaux du lot I.

#### **4.2.5 Consommation d'eau, d'aliment, croissance et indice de consommation**

Les résultats concernant ces quatre critères sont superposables à ceux concernant la morbidité. Faute de pouvoir recourir à une analyse statistique pour ces critères, les résultats suggèrent fortement, tout comme les précédents, l'efficacité des traitements étudiés et l'équivalence de celle-ci.

### **5. CONCLUSION**

Trois lots de poulets soumis à une épreuve d'infection colibacillaire particulièrement sévère ont permis de comparer l'efficacité du traitement par la Fluméquine à celle de l'Enrofloxacin.

L'efficacité du traitement et l'équivalence des deux traitements ont été démontrées pour les critères suivants :

- taux de mortalité cumulée de j1 à j10
- taux de morbidité cumulée pendant la période traitement,
- score lésionnel des animaux morts,
- poids des animaux en fin d'essai.

Cette équivalence d'efficacité est suggérée par les critères de consommation d'eau, d'aliment, de croissance des animaux et d'indice de consommation.

## **CHAPITRE III**

***REPRODUCTION EXPERIMENTALE  
D'UNE COLIBACILLOSE CHEZ LE POULET  
APPLICATION A L'EVALUATION DE  
L'EFFICACITE D'UNE AMOXICILLINE PAR  
RAPPORT A UNE ENROFLOXACINE DE  
REFERENCE***

## **OBJECTIF**

L'objectif de l'étude était de reproduire expérimentalement les symptômes d'une colibacillose de poulet à l'échelle d'un élevage industriel pour ensuite comparer l'efficacité thérapeutique de deux anti-infectieux dans le traitement de cette colibacillose. Un des deux produits possède déjà une A.M.M en France dans cette indication. Les produits ont été utilisés conformément aux indications des fabricants.

L'étude a été réalisée en accord avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire selon les Directives 87/18/CEE et 88/320/CEE des Communautés Européennes.

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1 MATERIELS

#### 1.1.1 SELECTION DES ANIMAUX

##### 1.1.1.1 Choix des animaux

- Espèce : poulet
- Race : Ross jaune
- Sexe : les poulets ont été sexés, la répartition des mâles et des femelles a été équilibrés de façon à avoir 50 mâles et 50 femelles par box.
- Age : 23 jours lors de l'inoculation (J1).
- Poids corporel moyen : 0,630 kg
- Nombre : 2207 poulets répartis en 4 lots.

##### 1.1.1.2 Définition des groupes

**Lot A** : 484 poulets inoculés par voie I.M avec  $0,5 \cdot 10^7$  C.F.U. d' *E. Coli*, puis traités avec une Amoxicilline dans l'eau de boisson à la dose de 20 mg/kg/j, pendant 5 jours.

**Lot B** : 484 poulets inoculés par voie I.M. avec  $0,5 \cdot 10^7$  C.F.U. d' *E. Coli*, puis traités avec une Enrofloxacin dans l'eau de boisson à la dose de 20 mg/kg/j, pendant 5 jours.

**Lot C** : 196 poulets inoculés par voie I.M avec  $0,5 \cdot 10^7$  C.F.U. d' *E. Coli*, mais non traités servant de témoins positifs pour évaluer les effets des traitements.

**Lot D** : 1043 poulets non inoculés, non traités, servant de témoins négatifs.

##### 1.1.1.3 Hébergement des animaux

Les poulets ont été répartis au hasard entre les deux salles.

Inoculés traités et inoculés non traités (lots A, B et C) étaient dans la même salle appelée salle 1.

Ces lots ont été répartis dans deux rangées de 6 cases à raison de 100 sujets par box (densité 20 poulets/m<sup>2</sup>)

La répartition des lots dans les box a été faite de la façon suivante :

- Lot A : box numérotés de 1 à 5.
- Lot B : box numérotés de 8 à 12.
- Lot C : box 6 et 7.

box 1 A	box 2 A	box 3 A	box 4 A	box 5 A	box 6 C
box 7 C	box 8 B	box 9 B	box 10 B	box 11 B	box 12 B

Le lot D de témoin d'élevage occupait la salle voisine du même bâtiment (box 13 à 24), appelée salle 2, dans les conditions identiques à celles des lots inoculés.

Pour les deux salles la litière était composée d'une base de copeaux surmontée de paille broyée. Les animaux étaient soumis à un éclairage permanent mais l'intensité de la lumière était variable L'eau et l'aliment étaient fournis ad libitum.

Les poulets des box 3, 7 et 9 de la salle 1, ainsi que ceux du box 14 de la salle 2, ont été identifiés individuellement par une bague alaire numérotée .

## 1.2 METHODES

### 1.2.1 INOCULATION ET TRAITEMENT

#### 1.2.1.1 Inoculation d'E coli

Une souche d'*Escherichia coli* septicémique aviaire de sérotype O<sub>78</sub>K<sub>80</sub> sensible à l'anti infectieux testé a été inoculée aux lots A, B et C. La sensibilité de la souche à l'anti – infectieux a été déterminée par SSNA (Sanofi Santé Nutrition Animale) et la valeur de la CMI est de 2 µg/ml.

Cette souche a été isolée à partir de lésions de colibacillose aviaire chez des poulets de chair. Elle est depuis conservée à la souchothèque du laboratoire de pathologie du bétail



de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

La suspension mère ajustée à  $10^9$  CFU/ml était conservée à  $-65^\circ\text{C}$  jusqu'à son utilisation. L'inoculum a alors été préparé par dilution en milieu PBS de façon à obtenir un titre de  $5 \cdot 10^7$  CFU/ml, puis réparti en flacons stériles.

L'inoculation a été réalisée à J1, par injection intramusculaire profonde dans les muscles du bréchet, d'une dose de  $0,5 \cdot 10^7$  CFU d' *E. Coli* dans un volume de 0,1 ml.

### 1.2.1.2 Produits à l'étude

nous appelons l'Amoxicilline le produit testé et l'Enrofloxacin le produit de référence.

### 1.2.1.3 Schéma de traitement

Les traitements ont été instaurés dans l'eau de boisson 48 heures après l'inoculation (j3).

Le traitement a duré 5 jours pour les deux produits et s'est terminé à j7.

Seuls les lots A et B ont été traités :

- **Lot A** (box 1 à 5) : L'Amoxicilline à 20 mg/kg/j, cette dose étant administrée sur 6 heures d'abreuvement par jour (de 9 à 15 heures).
- **Lot B** (box 8 à 12) : L'Enrofloxacin à 20 mg/kg/j, cette dose étant administrée en continue sur 24 heures en 2 x 12 heures.

La pesée des produits a été effectuée à l'aide d'une balance de type Sartorius Universal.

La quantité de produit nécessaire au premier jour de traitement a été calculée à partir du poids vif des poulets lors de la pesée à j-1. Les jours suivants les box 3 et 9, correspondant respectivement aux lots A et B, ont été pesées avant la préparation de la quantité de produit.

Chaque jour au environ de 9 heures, le volume de la solution a été ajustée sur la consommation de la veille.

Pour le lot A, le temps de traitement a été légèrement augmenté lorsqu'il restait de la solution médicamenteuse dans le bac (j6 et j7). Pour le lot B, la solution restant dans le bac à la fin des 12 heures a été jetée avant d'être remplacée par la solution fraîchement préparée (J3, j5 et j6)

#### **1.2.1.4 Posologie réellement distribuée**

La totalité de l'eau médicamenteuse préparée chaque jour n'a pas toujours été consommée en fin de période de traitement. En effet, les animaux morts au cours du traitement n'ont pas consommé la quantité d'eau traitée qui leur était destinée. En tenant compte de l'effectif ayant reçu les produits et la quantité d'eau traitée consommée par jour, la posologie réelle par jour a pu être calculée pour chaque produit. Les posologies ainsi calculées sont très proches de la posologie attendue, c'est-à-dire de 20 mg/kg/j (Annexe 1)

#### **1.2.2 OBSERVATIONS**

##### **1.2.2.1 Mortalité**

La mortalité quotidienne a été relevée pendant la période d'acclimatation. À partir de j1 jusqu'à j11, la mortalité a été relevée deux fois par jour (matin et soir) dans chaque groupe.

##### **1.2.2.2 Croissance de l'ensemble du lot**

La croissance a été mesurée en pesant ensemble les poulets d'une même box à J-1 et J11, et ce pour tous les boxes.

À J-1 et J11, la pesée individuelle des sujets bagués (box 3, 7, 9 et 14) a permis d'évaluer l'homogénéité du lot.

Des pesées supplémentaires ont été effectuées à J4, J5, J6 et J7 pour évaluer la quantité de produit nécessaire. Ainsi, les poulets des box 3 et 9, correspondant respectivement au lot A et au lot B ont été pesés collectivement de J4 à J7.

La mesure de la consommation d'eau a été réalisée de J-4 à J11 pour la salle 1. Pour la salle 2 (témoin d'élevage), la consommation d'eau a été mesurée de J2 à J11.

Les mangeoires ont été pesées à J-1 et J11.

Les pesées ont été effectuées à l'aide d'une balance de type Mettler PC 24.

### 1.2.2.3 Morbidité

La morbidité a été enregistrée quotidiennement en fin de matinée, de J1 à J10, selon la notation suivante :

- Note 0 : poulet normal ;
- Note 1 : Poulet abattu et debout (plumes ébouriffées),
- Note 2 : poulets abattus et couchés, qui se déplace lors de sollicitation modérée.
- Note 3 : poulet abattu et couché, qui ne se déplace pas lors de sollicitation modérée

### 1.2.2.4 Score lésionnel

Le score lésionnel a été noté pour tous les sujets morts de J1 à J10 (exceptés pour quelques sujets dont la putréfaction était trop avancée et ne permettait pas la lecture des lésions), et sur un échantillon de 30 survivants par lot à J11.

La classification des lésions de péricardite, de périhépatite et d'aérosacculite était la suivante.

- Note 0 : état normal,
- Note 1 : discrètes flammèches de fibrine sur le foie et/ou le cœur ; légère opalescence sur les sacs aériens :
- Note 2 : fibrine ne recouvrant pas tout l'organe ou en faible épaisseur sur le foie et/ou le cœur, début de dépôts de fibrine sur les sacs aériens,
- Note 3 : fibrine recouvrant tout l'organe sur une forte épaisseur sur le foie et/ou le cœur, dépôts de fibrine importants sur les sacs aériens

### 1.2.2.5 Bactériologie

A J11 des prélèvements d'organes (cœur, foie, poumons) ont été effectués sur 6 poulets parmi les 30 poulets autopsiés de chaque lot. Dès la fin des autopsies ces prélèvements ont été conduits sous couvert du froid au laboratoire d'analyse de Bignan (SELVET Conseil – 4, rue de la Résistance – Bignan) pour l'isolement, l'identification et le sérotypage des colibacilles en cause.

Le critère de jugement principal est le pourcentage de mortalité.

Les critères de jugement secondaires sont la morbidité, les scores lésionnels et la croissance.

### **1.2.3 ANALYSE STATISTIQUE**

La comparabilité des lots a été effectuée sur le facteur poids par analyse de variance à un facteur (lot).

Les taux de mortalité cumulée et les taux de morbidité ont été analysés selon la méthode du  $\chi^2$ .

La comparaison des scores lésionnels a été effectuée par le test de Kruskal-Wallis (méthode non paramétrique).

Les poids à J11 ont fait l'objet d'une analyse de variance puis de comparaisons deux à deux à l'aide du test de Tukey.

Les analyses ont été effectuées à l'aide des logiciels statistiques B.M.D. P et EPI-INFO au service de bio statistique de SSNA.

## **2. RESULTATS**

### **2.1 MORTALITE**

#### **2.1.1 Mortalité Quotidienne**

L'évolution de la mortalité au cours de l'essai est présentée dans le tableau 01 et le graphique 1

Le pourcentage de mortalité quotidienne à Jx correspond à la somme des morts recensés à Jx (soir) et à Jx+1 (matin). Divisée par Effectif De Jx (matin) et multiplié par 100.

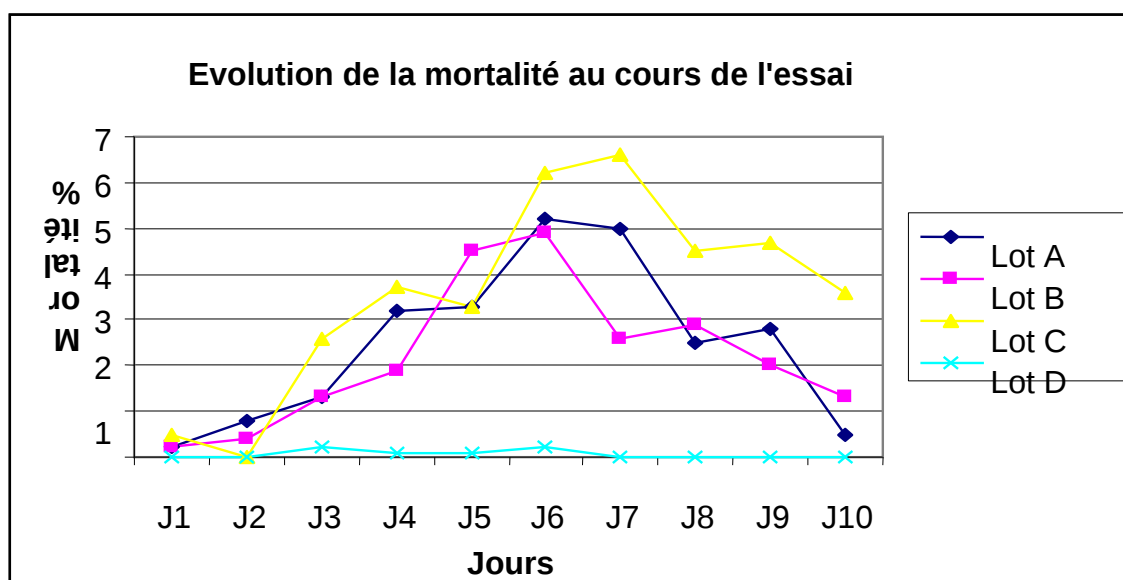
Le profil d'évolution de la mortalité journalière est à peu près identique pour les lots A, B et C (poulets inoculés).

Une augmentation de la mortalité quotidienne a été notée à partir de J13 avec un pic à J16 pour les lots A et B (lots inoculés – traités). Et à J17 pour le lot C (inoculé non traité) Ensuite le pourcentage de mortalité diminue jusqu'à J10 dans les 3 lots. Néanmoins la mortalité du lot non traité reste élevée à la fin de l'essai (3,6% à j10)

La mortalité du lot D (témoin d'élevage) varie peu entre j1 et j10. Elle était au maximum égale à 0,2% à j3 et à J6.

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
Lot A	0,2	0,8	1,3	3,2	3,3	5,2	5,0	2,5	2,8	0,5
Lot B	0,2	0,4	1,3	1,9	4,5	4,9	2,6	2,9	2,0	1,3
Lot C	0,5	0,0	2,6	3,7	3,3	6,2	6,6	4,5	4,7	3,6
Lot D	0,0	0,0	0,2	0,1	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0

**Tableau 1** : Pourcentage de mortalité quotidienne par Lot



**Graphique 1:** Evolution de la mortalité au cours de l'essai

### 2.1.2 Mortalité cumulée

Le pourcentage de la mortalité cumulée à Jx correspond au nombre de morts recensés de j1 à Jx divisé par l'effectif à 11 et multiplié par 100.

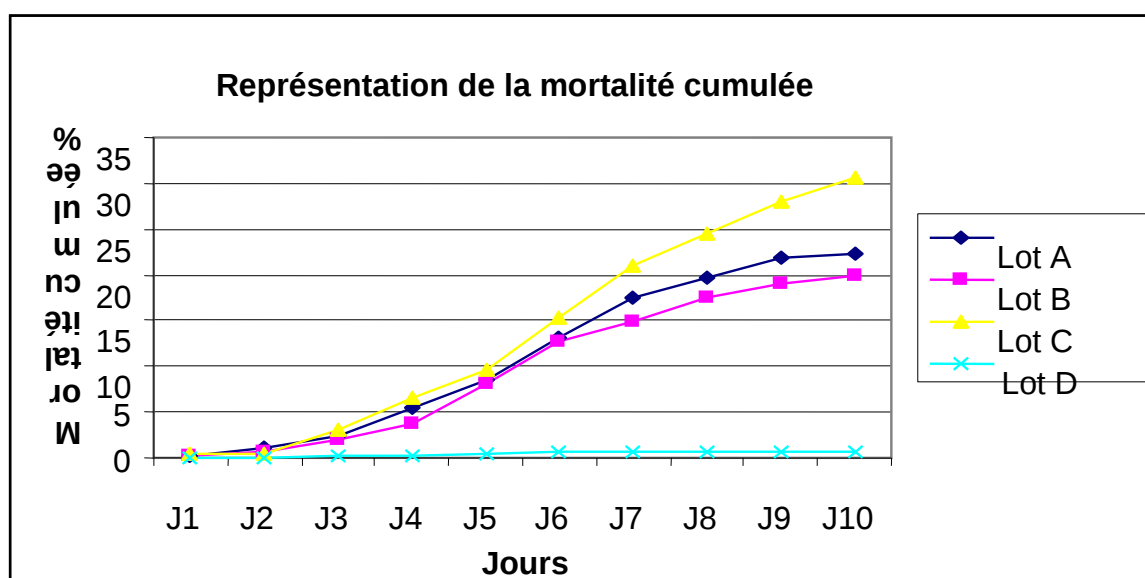
La mortalité cumulée du lot D (témoin d'élevage) était égale à 0,6% à 16. Ce pourcentage est resté stable jusqu'à j10 (tableau 2)

A J8, l'étude statistique n'a pas mis en évidence de différence significative entre la mortalité cumulée des lots A et B (lots inoculés – traités, respectivement avec l'Amoxicilline et l'Enrofloxacin) et celle du lot C (groupe inoculé – non traité).

Par contre, à j11, la mortalité cumulée du lot C était supérieure à celle des lots A et B

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
Lot A	0,2	1,0	2,3	5,4	8,5	13,2	17,6	19,6	21,9	22,3
Lot B	0,2	0,6	1,9	3,7	8,1	12,6	14,9	17,4	19,0	20,0
Lot C	0,5	0,5	3,1	6,6	9,7	15,3	20,9	24,5	28,1	30,6
Lot D	0,0	0,0	0,2	0,3	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6

**Tableau 2** : Mortalité cumulée au cours de l'essai  
(en pourcentage de effectif initial).



**Graphique 2** : Représentation de la mortalité cumulée

## 2.2 Morbidité

Les tableaux 3, 4 et 5 exposent la répartition de la morbidité selon les stades de gravité respectivement à J3, J8 et J11

A J13 (1<sup>er</sup> jour de traitement), soit 2 jours après l'inoculation, la morbidité des lots inoculés (lots A, B et C) avait tendance à s'aggraver tandis que le lot D, témoins d'élevage, ne présentait pas de signes cliniques.

Gravité	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
0	94,8%	95,9%	94,9%	99,9%
1	3,8%	1,9%	2,2%	0,1%
2	1,9%	1,4%	2,0%	0,0%
3	0,6%	0,7%	0,8%	0,0%

**Tableau 3** : Morbidité cumulée à j3 (1<sup>er</sup> jour de traitement)

A J8 et à J11 le lot D présentait une répartition de gravité de morbidité statistiquement inférieure aux lots A, B et C.

La répartition de gravité de morbidité du lot C était significativement supérieure aux lots A et B ( $p = 0,003$  à J8 et  $p < 0,001$  à J11).

Les lots A et B avaient une répartition de gravité de morbidité comparable ( $p = 0,13$  à J8 et  $p = 0,11$  à J11) .

Gravité	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
0	87,4%	88,8%	84,6%	99,5%
1	5,0%	3,9%	5,6%	0,5%
2	4,4%	4,4%	5,6%	0,0%
3	3,2%	2,8%	4,3%	0,0%

**Tableau 4** : Morbidité cumulée à J8

Gravité	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
0	87,80 %	89,20 %	84,30 %	99,50 %
1	4,40%	3,60%	5,50%	0,50%
2	4,50%	4,40%	5,50%	0%
3	3,30%	2,80%	4,70 %	0%

**Tableau 5** : morbidité cumulée à J11.

Scores de morbidité :

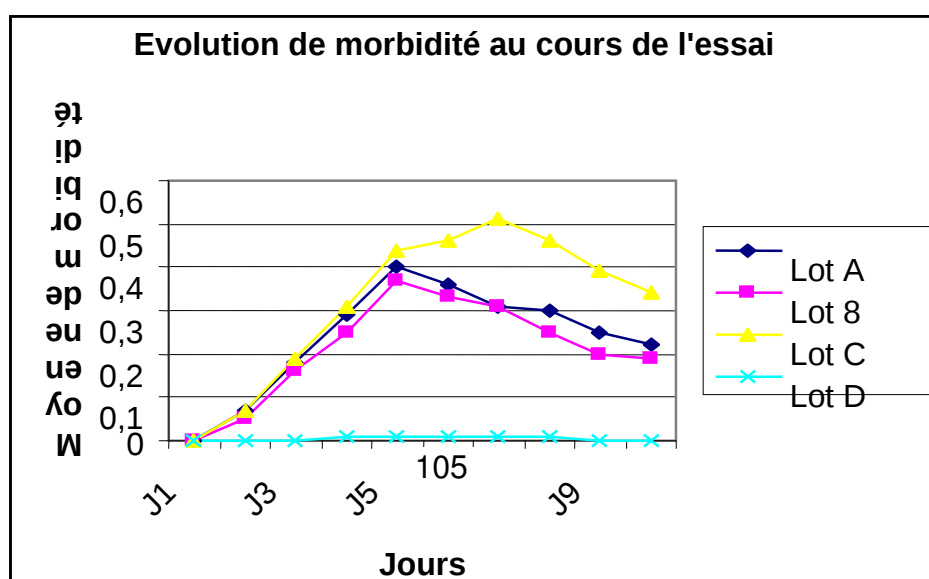
- 0 : poulet normal ;
- 1 : poulet abattu et debout (plumes ébouriffés) ;
- 2 : poulet abattu et couché, qui se déplace lors de sollicitation modérée ;
- 3 : poulet abattu et couché, qui ne se déplace pas lors de sollicitation

Modérée.

Le tableau 6 et le graphique 3 représentent l'évolution quotidienne de la morbidité au cours de l'essai.

Jour	Lot A	Lot 8	Lot C	Lot D
J1	0,00	0,00	0,00	0,00
J2	0,07	0,05	0,07	0,00
J3	0,18	0,16	0,19	0,00
J4	0,29	0,25	0,31	0,01
J5	0,40	0,37	0,44	0,01
J6	0,36	0,33	0,46	0,01
J7	0,31	0,31	0,51	0,01
J8	0,30	0,25	0,46	0,01
J9	0,25	0,20	0,39	0,00
J10	0,22	0,19	0,34	0,00

**Tableau 6** : Moyenne quotidienne des scores de morbidité rapportée à 100 poulets





### **Graphique 3 : Evolution de la morbidité au cours de l'essai.**

Après J5, la morbidité continuait de s'intensifier pour le groupe non traité (lot C), alors que la gravité de morbidité diminuait en présence d'un traitement (lots A et B).

## **2.3 SCORES LESIONNELS**

### **2.3.1 Scores lésionnels des animaux morts en cours d'étude**

Le tableau 7 présente l'évolution des scores lésionnels pour les animaux morts en cours d'essai.

L'effet du traitement n'est pas significatif sur le score lésionnel en cours de traitement (j3 à j7). Cependant les scores augmentaient rapidement dès le deuxième jour suivant l'inoculation (j3) et jusqu'à J6, pour ensuite décroître.

Pour l'ensemble des lots (A, B, C et D), les scores compris entre 2,33 et 3 représentaient les pourcentages suivants :

- 45% à j3
- 60% à j4
- 75% à j5
- 95,6% à j6
- 81,4% à j7

### **2.3.2 Scores lésionnels des animaux <sup>106</sup> sacrifiés à J11**

Le tableau 7 présente la répartition des scores lésionnels pour les poulets sacrifiés à J11.

Tous les poulets du lot D (témoin d'élevage) avaient un score inférieur ou égal à 1,33 alors qu'environ 50% des poulets des lots A, B et C (poulets inoculés) présentaient un score supérieur à 1,33.

Les lésions relevées dans le lot C semblaient plus prononcées bien qu'elles n'étaient statistiquement pas différentes.

Scores	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
--------	-------	-------	-------	-------

lésionnels				
0	26,7%	23,3%	16,7%	30%
0,33	6,7%	10%	13,3%	46,7%
0,67	10%	10%	10%	10 %
1	3,3%	3,3%	3,3%	10%
Total 0-1	46,7%	46,6 %	43,3 %	96,7%
1,33	6,7%	3,3%		3,3%
1,67		6,7%	10%	
2	10%	6,7%	3,3%	
Total 1-2	16,7%	16,6%	13,3%	3,3%
2,33		6,7%		
2,67	3,3%	3,3%	10%	
3	33,3%	26,7%	33,3%	
Total 2-3	36,6%	36,6%	43,3%	0%

**Tableau 8** : Répartition des scores lésionnels des poulets sacrifiés à J11

**Tableau 7** : Evolution des scores lésionnels des morts au cours de l'essai.

107

lot - inoculation	J2				J3				J4				J6				J7				J8				J9											
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D				
lots																																				
nombre d'autopsies	2	1	1	0	6	3	2	0	6	10	6	3	20	11	4	1	14	22	10	0	26	17	14	2	14	12	7	0	12	14	10	0	8	4		
0						1				2		2				1								2												
0,33																																				
0,67	1		1															1																		
1	1	1				1														1																
1,33					1		1													1																
1,67										1	1		1	1	2							1				1				1	1					
2						1				3			1								2		1													
2,33					2						1		2	1	1			1			1															
2,67					2		1		4	1	2		3					2			1	1	1		1	1					1	1				
3									2	3	2		11	8	1		14	18	9		21	14	9		13	10	7		12	12	7					
Non interprétables					1							1		1				1				1	2							1	1					

Le score lésionnel est la moyenne des notes des 3 organes (foie, cœur et sacs aériens) :

- 0 : Etat normal.
- 1 : discrètes flammèches de fibrine sur le foie et / ou le cœur, légère opalescence sur les sacs aériens.
- 2 : fibrine ne recouvrant pas tout l'organe ou en faible épaisseur sur le foie et / ou le cœur, début de dépôts de fibrine sur les sacs aériens.
- 3 : fibrine recouvrant tout l'organe sur une forte épaisseur sur le foie et/ ou le cœur, dépôt de fibrine importants sur les sacs aériens

## 2.4 CROISSANCE

108

### 2.4.1 Poids des poulets

Le poids des poulets à J-1 et J11 est présenté dans le tableau 09.

A J-1 il n'y avait pas de différence de poids entre les poulets de la salle1 (lots A, B et C - poulets inoculés). Les groupes étaient tout à fait comparables.

Par contre, les poulets de la salle 2 (lot D, témoin d'élevage) étaient significativement plus lourds. Les résultats définitifs sont donc à pondérer par l'effet salle qui "favorise" le lot témoin d'élevage.

La pesée à J-1 met en évidence l'hétérogénéité de chaque lot,

A J11, le poids moyen du lot D restait supérieur aux trois autres lots, tandis que les poids moyens des lots A, B et C sont comparables.

Poids (g)	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
J-1	611 ± 110	644± 93	630± 95	653± 109

J11	1145± 267	1092± 272	1181± 237	1260± 268
-----	-----------	-----------	-----------	-----------

**Tableau 9:** Poids des poulets à j-1 et j11

#### 2.4.2 Gain moyen quotidien

Le tableau 10 présente le gain moyen quotidien des poulets de J-1 à J11.

L'analyse statistique a été réalisée sur les sujets bagués; elle ne montre pas de différence significative entre les lots A, B et C, alors que le GMQ du lot D est significativement supérieur.

	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
GMQ (g)	47 ± 24	42 ± 23	41 ±27	56± 17

**Tableau 10.** GMQ de j-1 à J11

### 2.4.3 Consommation alimentaire

Le tableau 11 présente la consommation alimentaire par lot avant et après l'inoculation tandis que le tableau 12 présente la consommation alimentaire par poulet et par lot pendant la durée de l'essai

La consommation d'aliment est sensiblement identique pour les 2 lots traités (lots A et B)

Bien que le poids et le GMQ des poulets du lot C (inoculés - non traités) n'étaient pas statistiquement différents de ceux des lots traités, leur consommation alimentaire est fortement supérieure (+210 g, soit +10,3 %).

	Avant inoculation	Après inoculation
Lot A	437,1	391,8
Lot B	454,5	394,3
Lot C	180,4	147,8
Lot D	1055,4	1262,9

**Tableau 11** : Consommation alimentaire par groupe avant et après l'inoculation (en kg)

	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
Consommation (g/poulet)	2023	2046	2246	2226
Indice de consommation	1,83	1,83	1,97	1,71

**Tableau 12**: Consommation alimentaire (en g) et indice de consommation par poulet au cours de l'essai

### 2.4.4 Consommation d'eau

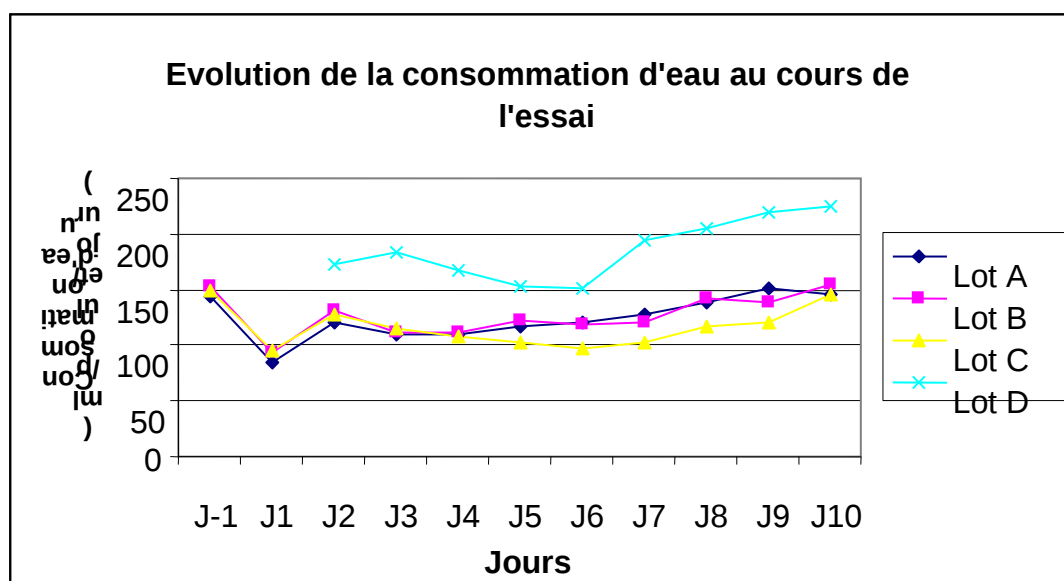
La consommation d'eau au cours de l'essai est représentée dans le tableau 13 et le graphique 4

La baisse de la consommation d'eau <sup>110</sup> à l'inoculation (11) était d'environ 39 %

(41% pour le lot A, 39% pour le lot B et 36% pour le lot C). A partir de J5, après 3 jours de traitement, l'augmentation de la consommation d'eau des animaux traités (lots A et B) et non traités (lot C) présentait le même profil d'évolution mais semblait plus lente pour le lot non traité

Jour	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
J-1	143,45	152,30	148,69	.
J1	84,14	93,75	95,27	.
J2	121,10	131,36	127,49	172,61
J3	110,53	112,11	114,22	182,85
J4	109,99	111,59	108,34	168,11
J5	116,09	122,47	102,81	153,10
J6	120,10	118,20	96,39	150,43
J7	126,82	121,36	102,50	193,83
J8	138,82	142,92	117,70	204,44
J9	150,79	138,25	120,57	219,86
J10	145,50	154,76	145,41	224,69

**Tableau 13** : Consommation d'eau quotidienne des poulets par lot (en ml/poulet/J)



**Graphique 4** : Evolution de la consommation d'eau au cours de l'essai

Dans les groupes inoculés (lots A, B et C) on pouvait mettre en parallèle l'évolution de la consommation d'eau avec celle des cas de morbidité dans le sens où plus la morbidité diminue, plus la consommation d'eau augmente.

## 2.5 BACTERIOLOGIE

Les prélèvements effectués suite à l'autopsie ont permis d'isoler une souche d' *Escherichia Coli* de sérotype O<sub>78</sub>K<sub>80</sub> à partir de poumons, coeurs et foies des lots A, B et C. La CMI vis-à-vis de l'anti-infectieux testés de cette souche correspond à la valeur initiale de la souche injectée.

La souche inoculée O<sub>78</sub>K<sub>80</sub> a été retrouvée chez tous les poulets inoculés (traités ou non), et n'a jamais été mis en évidence chez les poulets provenant du lot témoins d'élevage.

D'autres colibacilles non sérotypables ont été révélés au niveau des deux salles; leur CMI vis-à-vis de l'anti-infectieux serait de 4 µg/ml pour l'une et supérieure à 128 µg/ml pour l'autre (souche résistante à l'anti-infectieux). Il s'agirait de colibacilles non pathogènes (aucune lésion de colibacillose n'a été révélée dans la salle 2), appartenant au microbisme normal de bâtiments de volailles

## 3. DISCUSSION

### 3.1 DISCUSSION DES RESULTATS

La mortalité et la gravité de morbidité du lot D, témoins d'élevage, sont nettement inférieures à celles des lots inoculés.

La souche d' *E Coli* O<sub>78</sub>K<sub>80</sub> n'a jamais été isolée à partir de prélèvements issus de poulets du lot D elle a par contre été retrouvée chez les poulets des lots inoculés A, B et C

Ces résultats permettent une validation du modèle expérimental.

La mortalité du lot C (poulets inoculés non traités) est supérieure à celle des lots traités A et B principalement à partir de J6 et reste élevée à la fin de l'essai

La morbidité continue de s'intensifier pour le 112 | traité après J5 alors qu'en présence du traitement la gravité de morbidité diminue. Le traitement réduit assez rapidement la morbidité.

Malgré une croissance faible les traitements ont permis de limiter la dégradation de

l'indice de consommation.

Il n'y a pas de différence significative au niveau de la mortalité, de la morbidité et des scores lésionnels entre les deux traitements.

Dans les conditions de l'essai, il n'y a pas de différence significative entre l'administration dans l'eau de boisson de l'Amoxicilline à 20 mg/kg/jour concentré sur 6 heures et l'administration de l'Enrofloxacin à 20 mg/kg/jour en continu sur 24 heures dans le traitement d'une colisepticémie expérimentale.

Les deux traitements présentent une efficacité comparable. Ils entraînent une diminution de la mortalité et de la morbidité.

### **3.2 DISCUSSION DU MODELE EXPERIMENTAL**

#### **- Choix de la souche d' *E Coli***

Le sérotype O<sub>78</sub>K<sub>80</sub> inoculé correspond à une des souches de colibacilles les plus agressives en aviculture. La souche a été isolée à partir de lésions de colibacillose aviaire chez le poulet. La virulence de la souche a été étudiée en fonction des taux de morbidité et de mortalité dont elle est responsable. Ainsi la dose inoculée a été préalablement déterminée de façon à provoquer 30% de mortalité en 5 jours (DL<sub>30</sub>/5j), pas de mortalité à j1 et moins de 5% à j2. Le lot inoculé et non traité atteint 30% de mortalité au terme de l'essai (10 jours après l'inoculation). L'expression de la maladie était suffisamment importante pour pouvoir tester l'effet d'un traitement.

#### **- Choix des poulets**

La souche Ross Jaune est une souche couramment utilisée en élevage industriel de poulets de chair. Les poussins présentent une bonne résistance générale et leur croissance se fait sans problèmes.

Il a été démontré que la résistance à l'infection par des colibacilles est plus grande chez

des poulets âgés de plus de 21 jours Le mode d'inoculation par voie intramusculaire étant responsable d'une maladie d'emblée générale <sup>113</sup> symptômes plus marqués, nous avons attendu que les poulets soient assez résistants (23 jours à l'inoculation). En effet une mortalité trop importante empêcherait l'interprétation des résultats.

La résistance à l'infection liée à l'âge des poulets pourrait en partie expliquer que la



mortalité cumulée à J8 soit non significative entre les poulets traités et non traités.

Il est important que les poulets soient répartis au hasard entre les différents groupes car il existe toujours des variations individuelles. Statistiquement la répartition aléatoire par tirage au sort est la meilleure méthode d'arriver à constituer des lots homogènes.

### **- Voie d'inoculation**

Au niveau de notre choix de mode d'inoculation par voie intramusculaire, la contamination des poulets par *Escherichia coli* est réalisée simultanément sur la totalité des poulets. Or en élevage, la contamination se fait généralement progressivement; débutant en un point localisé du bâtiment elle se propage ensuite au reste des animaux.

La précocité d'apparition des lésions sévères (atteinte du score maximal des lésions dès le troisième jour après l'inoculation) est due au modèle expérimental. En effet le mode d'inoculation par injection intramusculaire entraîne une colisepticémie au cours de laquelle l'ensemble des organes est atteint. Ceci s'oppose à l'infection naturelle par voie aérienne dans laquelle l'atteinte respiratoire précède l'apparition de péricardite et de périhépatite, Ainsi avec un tel mode d'inoculation il aurait été préférable de commencer le traitement 24 heures après l'inoculation des colibacilles pour une meilleure efficacité du traitement

De plus cette voie d'inoculation est relativement traumatisante (contention des poulets, douleur au point d'injection) Pour limiter le stress liée à l'injection il est conseillé de changer régulièrement d'aiguille (tous les 10 poulets) afin d'éviter d'utiliser une aiguille trop émoussée plus traumatisante.

Il aurait pu être aussi intéressant d'étudier l'effet du stress lors de l'inoculation en ajoutant un lot de poulet supplémentaire auquel serait inoculé un placebo (liquide physiologique)

### **- Mise en place du traitement**

114

La bonne maîtrise de la quantité de germes inoculés par animal est un point fondamental dans la comparaison de l'efficacité de deux spécialités anti-infectieuses. Notre méthode répond à cette exigence mais elle présente tout de même un inconvénient. Lors de l'essai

la totalité des poulets est inoculée par la bactérie et l'efficacité réelle des deux traitements se trouve ainsi sûrement sous-estimée par rapport à leur application en élevage. En effet dans ce cas la grande majorité des poulets traités n'étant pas encore contaminés par l'agent infectieux, les anti-infectieux interviendraient beaucoup plus tôt en bloquant le développement de la maladie.

L'étude in vitro de la cinétique de bactéricidie de la molécule testée réalisée sur une souche d' *E.coli* d'origine aviaire a montré une phase précoce de bactéricidie (0-7 heures) plutôt concentration dépendante puis une phase tardive de recroissance bactérienne, d'où l'idée d'une efficacité accrue avec un traitement concentré dans le temps. Un précédent essai a d'ailleurs montré que le rythme d'administration de l'anti-infectieux à 20 mg/kg sur 3 heures est plus efficace que celui à 20 mg/kg sur 24 heures en traitement de la colisepticémie du poulet Or il ressort de l'essai que l'administration de cet anti-infectieux à la même posologie sur 6 heures présente une efficacité comparable à l'administration en continu sur 24 heures, L'efficacité moindre de l'administration de l'anti-infectieux sur 6 heures par rapport à la concentration du traitement sur 3 heures peut s'expliquer par un pic plasmatique plus faible D'autre part la morbidité diminue le rythme d'abreuvement des poulets prostrés: les sujets les plus atteints échappent ainsi d'autant plus au traitement que la période d'administration est courte. Or la concentration sanguine en cet anti-infectieux est dose dépendante, Un abreuvement insuffisant ne permet donc pas d'atteindre la valeur de CMI de la bactérie, Néanmoins il serait intéressant de comparer l'efficacité sur 3 et 6 heures du traitement d'une colisepticémie par l'anti-infectieux testé.

La fixation tissulaire de l'anti-infectieux testé est non négligeable car son volume de distribution est de l'ordre de 1.5 à 2l/kg. Cette fixation tissulaire est favorisée chez

115

les poulets atteints de colisepticémie par un concentration sanguine supérieure de 1.6 à 10 fois celle des poulets sains, ainsi que par l'augmentation du débit sanguinet de la perméabilité vasculaire.

Cependant sa diffusion est ralentie au niveau des lésions fibrineuses. Cela suppose que le traitement est d'autant plus efficace qu'il est précoce (avant l'apparition de lésions

fibrineuses). Lors de l'essai ce type de lésion est apparu dès le 3<sup>ème</sup> jour après l'inoculation (au 1er jour de traitement) ce qui diminue l'efficacité du traitement les jours suivants.

### **- Importance de l'environnement**

L'ambiance apparaît comme un facteur non négligeable

En effet la pesée à J-1 a révélé l'effet salle qui a favorisé la salle 2 renfermant les poulets témoins. Les écarts entre le lot d'élevage (salle 2) et les poulets inoculés (salle 1) doivent donc être pondérés par ce facteur.

Il existe aussi des variations d'ambiance au sein d'une même salle; les poulets occupant le box1 de la salle 1 ont été soumis à un courant d'air lors de l'ouverture des portes d'accès au bâtiment et à la salle, responsable d'un taux de morbidité et de mortalité plus élevé dans ce box. Cette observation souligne l'importance de la répartition au hasard des box constituant chaque lot.

Ces observations soulignent l'importance de la répartition des animaux par tirage au sort. Dans nos essais les poulets ont été préalablement sexés puis répartis aléatoirement entre les deux salles de façon à ce que chaque case renferme autant de femelles que de mâles (50 femelles et 50 mâles). En effet les femelles étant plus légères que les mâles une répartition inégale des sexes entre les box aurait pu fausser l'étude de la croissance des différents lots lors des pesées régulières.

Par contre en raison du problème pratique que pose la distribution de l'antibiotique dans l'eau de boisson, la répartition des box n'a pas été effectuée au hasard. Les cases d'un même lot traité sont sur la même rangée, les réservoirs d'eau étant disposés à leur extrémité.

## CONCLUSION

La colibacillose respiratoire et la colisepticémie représentent les principales formes d'expression clinique d'une infection à *E. Coli* chez les poulets de chair élevés industriellement. De nombreux colibacilles sont non pathogènes mais les *E Coli* les plus fréquemment isolés lors d'infection correspondent aux trois sérotype O<sub>1</sub>K<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>K<sub>1</sub>) et O<sub>78</sub>K<sub>80</sub>. Or actuellement il n'existe pas de vaccin efficace au niveau des élevages. Aussi l'intérêt de pouvoir reproduire une colibacillose aviaire de façon expérimentale est de permettre l'étude de nouveaux traitements ou la mise au point d'une prophylaxie médicale.

L'élaboration d'un tel modèle nécessite de fixer plusieurs paramètres. Certains dépendent de la bactérie; en effet la virulence de la souche d' *E. Coli* et la dose inoculée doivent être préalablement définies. D'autres facteurs sont fonction des poulets inoculés; la souche de poulet ainsi que leur âge le jour de l'inoculation interfèrent aussi dans l'intensité de la maladie développée. Le choix de la voie d'inoculation est capital selon l'expression de la maladie recherchée et peut nécessiter une éventuelle association avec un agent initiateur.

Lors de notre essai nous avons pu provoquer une colisepticémie d'intensité correcte chez des poulets âgés de 23 jours suite à l'inoculation intramusculaire d'une souche d' *E Coli* à la dose de  $0,5 \cdot 10^7$  CFU. Les taux de mortalité et de morbidité obtenus valident notre méthode. Ensuite les deux anti-infectieux testés ont montré une efficacité comparable dans le traitement de cette colibacillose

Ce modèle maîtrise un grand nombre de paramètres :

- L'âge des animaux de l'inoculation.
- une quantité égale de germes inoculés par animal;
- l'absence de contamination de l'inocula par le milieu extérieur;
- le moment précis d'inoculation du poulet par le germe infectieux,
- le stress identique pour chaque individu inoculé.

Ceci en fait une méthode facilement reproductible qui peut donc être standardisée.

Pour mimer au mieux les conditions naturelles de contamination des poulets par les colibacilles il pourrait être intéressant d'inoculer les animaux à l'aide d'un aérosol contaminé. Ceci a déjà été réalisé (ARP, 1978 et GJESSING, 1988) mais ce modèle présente certains inconvénients. D'une part, elle ne permet pas de maîtriser la dose de

l'inocula et d'autre part, afin de favoriser l'infection il est nécessaire de fragiliser préalablement l'arbre respiratoire en soumettant les poulets à un taux élevé d'ammoniac ou à un agent viral initiateur. Il ne faudrait alors pas négliger l'éventualité de diffusion du virus respiratoire à l'extérieur du site expérimental (Annab et all., 2002, Claudia et all.2003)

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- ADLER, RE., MC MARTER, D A and ORTMA YER, R. The effect of infectious bronchitis virus on chickens infected with *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Diseases. 1962, **6**,267-274.
- AMNAB E.T and ROBERT P.H. Interaction between *E.coli* and Newcastle disease virus in chickens. Avian Dis : 2002; **46** :660 – 667
- ANDREATTI-FILHO, R.L, SILVA E. N. and BALEN, L - Effect of route of inoculation on the pathogenicity and apathogenic *Escherichia coli* strains in chickens. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia, 1993, **45** (5): 475-486.
- ARNE P., MARC D., BREE A., SCHOULER C., DHOMOULINM. Increased tracheal colonization in chickens without impairing pathogenic properties of avian pathogenic *Escherichia coli* MT78 with a fimH deletion. Avian Dis., 2000; **44**: 343-355.
- ARP, L.H, and JENSEN, A.E. - Piliation, hemagglutination, motility, and generation time of *Escherichia coli* that are virulent or avirulent for turkeys Avian Diseases. 1980; **24**: 153161
- ARP, L.H., GRAHAM, C.L.G. and CHEVILLE, N.F. Comparison of clearance rates of virulent and avirulent *Escherichia coli* in turkeys after aerosol exposure. Avian Diseases, 1978;**23**:386-391.
- BABAI R., BLUM-OEHLER G., STERN B.E., HACKERJ., RON E.Z. Virulence patterns from septicemic *Escherichia coli* O78 strains. FEMS Microbiol. Lett.,1997; **149**: 99-105.
- BAINS, B.S. - Colibacillosis. - in A manual of poultry diseases. Ed Roche, 1979; 81-83.
- BALIARSINGH, S K, RAO, AG and MISHRA, PK . Pathology of experimental colibacillosis in chicks. Indian Vet. J, 1993; **70**: 808-812.
- BENOIT L.,FAIRBROTHER J.M., BOULIANE M. and MESSIER S. Evaluation of adhesive capacity of *E. coli* isolates association with avian cellulitis. Avian Dis : 2003; **47** : 21 – 31.
- BLANCO J.E., BLANCO M., MORA A., BLANCO J. Production of toxins (enterotoxins, verotoxins, and necrotoxins) and colicins by VT strains isolated from septicemic and healthy chickens: relationship with in vivo pathogenicity. J. Clin. Microbiol., 1997; **35**: 2953-2957.
- BLANCO J.E., BLANCO M., MORA A., JANSEN W.H.,GARCIA V., VASQUEZ M.L., BLANCO J. Serotypes of *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens in Galicia (Northwest Spain). Vet. Microbiol., 1998; **61**:229-235.
- BOLIN, C.A and JENSEN, AE. - Passive immunization with antibodies against iron-regulated outer membrane proteins protects turkeys from *Escherichia coli* septicemia. Infection and Immunity, 1987,**55**: 1239-1242.

BREE, A, DHO, M. and LAPONT, JP. - Comparative infectivity for axenic and specific-pathogen-free chickens of O2 *Escherichia coli* strains with or without virulence factors. Avian Diseases, 1989; **33**: 134-139.

BUMSTEAD, N., HUGGINS, ME. and COOK, JKA \_ Genetic differences in susceptibility to a mixture of avian infectious bronchitis virus and *Escherichia coli*. British Poultry Science, 1989;**30**: 39-48.

CHANTELOUP, NK, DHO-MOULIN, M, ESNAULT, E, BREE, A and LAFONT, J.P. Serological conservation and location of the adhesin of avian *Escherichia coli* type 1 fimbriae. -Microbial Pathogenesis, 1991; **10**: 271 – 280

CHAPFER, M, SCHWARTSBURD, E. and HELLER, ED. Vaccination of turkey poult against pathogenic *Escherichia coli*. Avian pathology, 1997; **26**:377 - 390.

CHARLES DOZOIS .M, CHANTELOUP.N, VONNE.M.,DHO.M., BREE.A., DESANTELS.C and FAIRBROTHER J. M: bacterial colonization and *in vivo* expression of F1 (type 1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic E. coli. Avian dis. 1994; **38**:231-239.

CHARLESTON, E., GATE, J.J, AITKEN, I A, STEPHAN, B. and FROYMAN, R. Comparison of the efficacies of three fluoroquinolone antimicrobial agents, given as continuous or pulsed-water medication, against *Escherichia coli* infection in chickens. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1998; **42**: 83-87.

CHIZU K., HIDEAKI S., YOKOHAMA S.A.,GUYEN V.N.,TOMOMI H.,MAZAHIKO K and YOHKATSU K. Enhancement of chickens resistance against E. Coli infection by oral administration of bifido bacterim thermophilen preparation. Avian Dis : 2002; **46** :542 – 546.

CLAUDIA D.K ,DANIEL J.K, BRUCE S.S AND BROWN C.C.Pathogenesis of chickens passaged Newcastle disease viruses isolated from chickens and wild and exotic birds. Avian Dis : 2003; **47** : 319 – 329

CLOUD, SS, ROSENBERGER, JK, FRJES, P.A, WILSON, RA and ODOR, EM. In vitro and in vivo characterization of avian *Escherichia coli*. I.Serotypes, metabolic activity and antibiotic sensitivity. Avian diseases, 1986;**29**, (4): 1084-1093.

CONTANT, G., BEAUPERE, F., MATHON, A, BONAL, F. et LE BLANC, J.P. Un nouveau concept de diagnostic rapide des *E. coli* aviaires et d'étude précoce de leur sensibilité aux antibiotiques. Deuxièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 8-10 avril 1997.

CROSS, A.S. - The biological significance of bacterial encapsulation. Curr. Top. Microbiol. Immunol, 1990; **150**: 87.

CZIROK, E, DHO, M, HERPAY, M, GADO, I. and M1.LCH, H \_ Association of virulence markers with animal pathogenicity of *Escherichia coli* in different models. Acta Microbiol. Hung., 1990; **37**:207-217.



DARELL R. KAPCZYNSKY A.C , DEBOROHA H. , DAVIS S. , HOLLY S.,SELLERS AND MARC W.J. Protection of chickens from infectious bronchitis by in ovo and intramuscular vaccination with a DNA vaccine expressing the S1 glycoprotein. *Avian Dis* : 2003 ; **47** :272 – 285

DESMETTRE, B. and CHEVRIER, A - Tolérance locale et innocuité des vaccins aviaires en adjuvants huileux. *Dev. Biol. Stan.*, 1982;**51**: 45-53.

DHO-MOULIN M., FAIRBROTHER J.M. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.*, 1999; **30**: 299-316.

DHO-MOULIN, M. - Les *Escherichia coli* pathogènes des volailles. *Ann. Méd. Vét.*, 1993; **137**: 353-357.

DHO-MOULIN, M. and LAFONT, J.P. - *Escherichia coli* colonisation of the trachea in poultry comparison of virulent and avirulent strains in gnotoxenic chickens. *Avian diseases*, 1982;**26**: 787-797.

DHO-MOULIN, M. and LAFONT, JP. - Adhesive properties and iron uptake ability in *Escherichia coli* lethal and nonlethal for chicks. *Avian diseases*, 1984; **28**: 1016-1025.

DHO-MOULIN, M., VAN DEN BOSCH, J.F., GIRARDEAU, JP, BREE, A, BARAT, T. and LAFONT, JP - Surface antigens from *Escherichia coli* O<sub>2</sub> and O78 strains of avian origin. - *Infection and immunity*, 1990; **58**: 740-745

DOZOIS C.M., DHO-MOULIN M., BREE A., FAIRBROTHER J.M., DESAUTELS C., CURTIS III R. Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian *Escherichia coli* and localization and analysis of the tsh genetic region. *Infect. Immun.*, 2000;**68**: 4145-4154.

DOZOIS C.M., POURBAKHS S.A., FAIRBROTHER J.M. Expression of P and type 1 (F1) *fimbriae* in pathogenic *Escherichia coli* from poultry. *Vet. Microbiol.*,1995, **45**: 297-309.

DOZOIS, C.M., FAIRBROTHER, JM., HAREL, J and BOSSEE, M. - pap- and pil-related DNA sequences and other virulence determinants associated with *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens and turkeys. *Infection and Immunology*, 1992; **60**: 2648. 2656.

DOZOIS, CM, CHANTELOUP, N.K., DI-IO-MOULIN, M, BREE, A., DESAUTELS, A. and FAIRBROTHER, JM. - Bacterial colonization and in vivo expression of type 1 fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Dis*, 1994; **38**: 231-239.

DUNNINGTON, EA, SIEGEL, P.B. and GROSS, WB. - *Escherichia coli* challenge in chickens selected for high or low antibody response and differing in haplotypes at the major histocompatibility complex. *Avian diseases*, 1991; **35**: 937-940.

EL FADIL A.A, VAILLANCOURT J.P., MEEK A.H., JULIAN R.G., GYLES C.L. Description of cellulites lesions and associations between cellulites and other categories of condemnation. Avian Dis., 1996;**40**: 690 – 698.

ELLIS, MG. ARP, L.H. and LAMONT, S.J – Serum resistance and virulence *Escherichia coli* isolated from turkeys. Am. J. Vet. Res, 1988;**49**:2034

EMERY, D A., NAGARAJA, KY, SHAW, DP, NEWMAN, JA and WHITE, D. G. Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemia in chickens and turkeys. Avian diseases, 1992; **36**:504.

GERARDIN J., LALIOUI L., JACQUEMIN E., LE BOUGUENEC C., MAINIL J.G. The *afa*-related gene cluster in necrotogenic and other *Escherichia coli* from animals belongs to the *afa-8* variant. Vet. Microbiol., 2000; **19**(45): 1-10.

GJESSING, KM, BERKHOFF, HA, CORBETT, WT and STEBBINS, M.E - Experimental reproduction of airsacculitis and septicemia by aerosol exposure of day-old chicks using congo red-positive E. coli. Western Polity Disease Conference, 1988; 152 - 155

GJESSING, KM. and BERKHOFF, RA - Experimental reproduction of airsacculitis and septicaemia by aerosol exposure of 1-day-old chicks using Congo red-positive *Escherichia coli*. Avian diseases, 1989;**33**:473 – 47

GLUNDER G. Dermatitis in broilers caused by *Escherichia coli* : isolation of *Escherichia coli* from field cases, reproduction of the disease with *Escherichia coli* O78:K80 and conclusions under consideration of predisposing factors. J. Vet. Med. [B], 1990; **37**, 383-391.

GOMIS, SM., WATTS, T., RIDDELL, C, POTTER, AA and ALLAN, B.J Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulitis and septicemia in broiler chickens. Avian diseases, 1997;**41**:234-240.

GONZALEZ, EA, BLANCO, J, BALODA, S.E., FROM AN, G, DHO, M, LAFONT, JP and W ADSTRUM T. - Virulent *Escherichia coli* strains for chicks bind fibronectin and type II collagen. Microbios, 1990; **62**: 113 - 127.

GOREN E. Observations on experimental infection of chicks with *Escherichia coli*. Avian Pathology, 1978;**7**:213-224.

GOREN, E, DE IONG, WA and DOORNENBAL, P -Therapeutic efficacy of medicating drinking water with spectinomycin and lincomycin-spectinomycin in experimental *Escherichia coli* infection in poultry. The Veterinary Quarterly, 1988; JO, **03**: 191- 97,

GROSS W.G. Diseases due to *Escherichia coli* in poultry. In: GYLES C.L. (Eds), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. Cab international: Wallingford, 1994;237-259.

GROSS, W.B - Colibacillosis : Diseases of poultry, Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1991; 138-144

GROSS, W.B and DOMERMUTH, CH - Factors influencing the severity of *Escherichia coli* and avian adenovirus group II infections in chickens. Avian Diseases, 1988; **32**: 793-797

GROSS, W.B. - Factors affecting the development of respiratory disease complex in chickens. Avian Diseases, 1990; **34**: 607-610.

GROSS, WB - The development of "air sac disease". Avian Diseases, 1961; **5**: 431-439.

GROSS, WB and SIEGLE P.B., Coliform peritonitis of chickens .Avian dis. 1959;**3**: 370 – 373

GUERIN J. ., BOISSIEUC. Les colibacilloses ou infections à *Escherichia coli* Avi campus :Dernière mise à jour : 30.06.08

GYIMAH, JE, PANIGRAHY, B and WILLIAMS, J.D. Immunogenicity of an *Escherichia coli* multivalent pilus vaccine in chickens. Avian diseases, 1986, 30,687.  
GYMAH, JE. - Pathogenesis and biological control of colibacillosis in chickens. Dissertation Abstracts International, 1987;**47**: 12 .

HACKER, J – Genetic determinants coding for fimbriae and adhesins of extraintestinal *Escherichia coli*. Current topics in microbiology and immunology, 1990; **151**: 1-27.

HUANG H.G., and MATSUMOTO M. Immunity against E.Coli infection in chickens assessed by viable bacterial counts in internal organs. Avian Dis : 1999; **43** : 469 – 475

IKE, K, KA W AHARA, K, DANBARA, H and KUME, K - Serum resistance and aerobactin iron uptake in avian *Escherichia coli* mediated by conjugative 100 - Megadalton plasmid J. Vet Med Sci., 1992,54,1091

JANßEN T., SCHWARZ C., PREIKSCHAT P., VOSS M., PHILIPP H.-C., WIELER L.H. Virulence-associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from internal organs of poultry having died from colibacillosis. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2001, **291**: 371-378.

JEFFREY J.S., NOLAN L.K., TONOOKA K.H. , WOLF.S.,GIDDINGS C.W.,HORM S.M., FOLEY S.L.,LYNNE A.M., EBERT J.O ELIJAH L.M.,jorklund g.b. ,pfaff s.j., DONOUGH M.C.,SINGER R.S. and DOETKOTT C. Virulence factors of E coli from cellulitis or colisepticemia lesions in chickens. Avian Dis : 2002; **46** : 48 – 52

JOHN J.M., CHARLES L., HOFACRE.,WOOLY R.E ., GIBBS P. and FRAUMAN P. Virulence factors associated with *E.coli* presentin a commercially produced competitive exclusion product. Avian Dis : 2002; **46** : 704 – 707

JORDAN F.T.W., PATTISON M. Poultry diseases. W. B. Saunders Company: London, 1996; 38-43.

KAECKENBEECK, A. - Le diagnostic des souches pathogènes d'*Escherichia coli* petites et grandes histoires. Ann. Méd. Vét., 1993 ; **137** :337-340,

KALLENIIUS G., MOLLBY R., SVENSON S.B., HELIN I., HULTBERG H., CEDERGREN B., WINBERG J. Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections. *Lancet*, 1981, **2**, 1369-1372.

KATWA L.C., WHITE A.A. Presence of functional receptors for the *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin in the gastrointestinal tract of the chicken. *Infect.Immun.*,1992; **60**: 3546-3551.

KEMPF, L, GESBERT, F., GUITTET, M. et BENNEJEAN, G - Mise au point d'un modèle expérimental de colibacillose chez le canard de Barbarie. *Revue Mid Vét.*, 1993, **144** (10):767-772

KOBE, A, EBRECHT, A. and FRIES, R. - Minimum inhibitory concentrations of intestinal *Escherichia coli* from broiler chickens after oral administration of apramycin. *Journal of Applied Bacteriology*, 1996; **80**: 26-30.

KRISHNAMOHAN REDDY, y and KOTEESWARAN, A. - Studies on experimental *Escherichia coli* infection in Japanese quails. *Indian Vet. J*, 1994 959-963

LAFONT, IP, DI-IO, M, D'HAUTEVILLE, HM, BREE, A and SANSONETTI, P J. Presence and expression of aerobactin genes in virulent avian strains of *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 1987;**55**: 193-197.

LALIOUI L., JOUVE M., GOUNON P., LE BOUGUENEC C. Molecular cloning and characterization of the *afa-7* and *afa-8* gene clusters encoding afimbrial adhesions in *Escherichia coli* strains associated with diarrhea or septicemia in calves. *Infect. Imm.*, 1999; **67**: 5048-5059.

LARSEN, CT., DOMERMUTH, CH., SPONENBERG, DP and GROSS, WB- Colibacillosis of turkeys exacerbated by hemorrhagic enteritis virus. *Avian Diseases*,1985; **29**: 729-732

LE BOUGUENEC C., BERTIN Y. Afa and F17 adhesins produced by pathogenic *Escherichia coli* strains in domestic animals. *Vet. Res.*, 1999 ; **30** :317-342.

LECOANET, 1. - Colibacilloses aviaires. - Dans Manuel de Pathologie Aviaire. Imprimerie du Cercle des Elèves de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Ed. par J. Brugère Picoux et A Silim, 1992 ; 237-240

MAINIL J.G., GERARDIN J., JACQUEMIN E. Identification of the F17 fimbrial subunit- and adhesinencoding (*f17A* and *f17G*) gene variants in necrotoxicogenic *Escherichia coli* from cattle, pigs and humans. *Vet.Microbiol.*, 2000; **73**: 327-335.

- MAINIL J.G., JACQUEMIN E., HERAULT F., OSWALD E. Presence of pap-, sfa-, and afa-related sequences in necrotoxicogenic *Escherichia coli* isolates from cattle : evidence for new variants of the AFAfamily. *Can. J. Vet.Res.*, 1997; **61**: 193-199.
- MAJO, N, GIBERT, X, VILAFRANCA, M., O'LOAN', C J, ALLAN, G.M., COSTA, L.I., .PAGES, A. et RAMIS, A - Turkey rhinotracheitis virus and *Escherichia coli* experimental infection in chickens histopathological, immunocytochemical and microbiological study . *Veterinary Microbiology*, 1997;**57**:29-40
- MARC P., ARNE P., BREE A., DHO-MOULIN M. Colonization ability and pathogenic properties of a fimmutant of an avian strain of *Escherichia coli*. *Res.Microbiol.*, 1998; **149**: 473-485.
- MARTIN C., ROUSSET E., DE GREVE H. Human uropathogenic and bovine septicaemic *Escherichia coli* strains carry an identical F17-related adhesin. *Res. Microbiol.*,1997 ; **148** : 55-64.
- MOGENET L., BEZILLE P.,GUYONNET J. ET KAREMBE H: Comparaison de la flumequine (flumisol) à l'Amoxicilline (Vetromoxin: poudre orale) dans deux modes d'administration par voie orale en traitement de la colibacillose du poulet approche pharmaco dynamique et clinique. *Rev. Med. Vet.* 1997; **148**: 10: 793 – 80
- MONROE A.D.,LATIMER K.S.,PASTI G.M and BAKALI R.I. Bacteriophage treatment of a severe E.Coli respiratory infection in broiler chickens.*Avian Dis* : 2003; **47** : 1399 – 1405.
- MUSANGU, N., JACOB, KPK, DAVID, G.W, THOMAS, S W, CRAIGMYLE, R, ROBERT, O., ANDREW, AP., and BRENDA, A - *Escherichia coli* cellulitis in broiler chickens . clonal relationships among strains and analysis of virulence associated factors of isolates from diseased birds. *Infection and Immunity*, 1996; **64** (8): 3118-3126.
- NAGI, M S, and MATHEY, WJ - Interaction of *Escherichia coli* and *Eimeria brunetti* in chickens. *Avian Diseases*, 1972; **16**: 864-873,
- NAKAMURA K, UEDA, H, TANIMURA, T and NOGUCHI, K - Effect of mixed live vaccine (Newcastle disease and infectious bronchitis) and *Alycoplasma gallisepticum* on the chicken respiratory tract and on *Escherichia coli* infection *J. Comp. Path*, 1994; **111**: 33-42
- NAKAMURA, K, COOK, J KA, FRAZIER, J A and NARITA, M. - *Escherichia coli* multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with Infectious bronchitis virus and/or E. coli. *Avian Diseases*, 1992;**36**:881-890.
- NAKAMURA, K, TMADA, Y and MAEDA, M - Lymphocytic depletion of bursa of Fabricius and thymus in chickens inoculated with *Escherichia coli*. *Vet pathol*, 1986; **23**: 712-717.

NAKAMURA., K., IMADA, Y and ABE, F. - Effect of cyclophosphamide on infections produced by *Escherichia coli* of high and low virulence In chickens. *Avian Pathology*, 1987; **16**:237-252

NAVEH MW, ZUSMAN, T, SKUTELSKY, E and RON, E Z - Adherence pili; in Avian strains of *Escherichia coli*, effect! on pathogenicity, *Avian Diseases*, 1984; **28**: 651--661.

NEWBERRY, L.A, SKEELES, JK, KREIDER, DL., BEASLEY, JN, STORY, J.D, MCNEW, R,W, and BERRIDGE, BR - Use of virulent hemorrhagic enteritis virus for the induction of colibacillosis in turkeys. *Avian Diseases*, 1993;**37**: 1-5.

ONKEN H. - Efficacy of different antiinfectives in the treatment of E. coli-infection in poultry. *Zootecnica International*, 1994.

OSWALD E. and DE RYCKE, J A single protein of 110 kDA is associated with the multinucleating and necrotizing activity coded by the Vir plasmid of *Escherichia coli*. *FEMS, Microbiol. Lett*, 1990, **66**,278

OYETUNDE O.O.F, THOMSON R.G., CARLSON H.C. Aerosol exposure of ammonia, dust and *Escherichia coli* in broiler chickens. *Can. Vet. J.*, 1978; **19**: 187-193.

PAKPINYO S. , LEY D.H., BARNES H.J.,VAILLANCOURT J.P and GUY J.S. Prevalence of entero pathogenic E.Coli in naturally occurring cases of poultry enteritis mortality syndrome. *Avian Dis* : 2002; **46** : 360 – 369

PARKKINEN, J and KORHONEN, T.K - Binding of plasminogen to *Escherichia coli* adhesion proteins.Federation of European Biochemical Societies, 1989;**250**:437-440,

PARREIRA V.R., ARNS C.W., YANO T. Virulence factors of avian *Escherichia coli* associated with swollen head syndrome. *Avian Pathol.*, 1998; **27**: 148-154.

PATTISON M., CHETTLE N., RANDALL C.J., WYETH P.J. Observations on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. *Vet. Rec.*, 1989; **125**: 229-231.

PEIGHAMBARI S.M., JULIAN R.J., GYLES C.L. Experimental *Escherichia coli* respiratory infection in broilers. *Avian Dis.*, 2000; **44**: 759-769.

PENELOPE S. ,GIBBS,MAURERJ.,LISA K and RICHARD E WOOLY. Prediction of chickens embryo lethality with the avian E.Coli traits complement resistance, colicinv production and presence of increased serum survival gene cluster(iss).*Avian Dis* : 2003; **47** : 370 – 379

PINGAN, L, DEFENG, C and UWU, G - Studies in colibacillosis in fowls Establishment of an artificial infection mode and evaluation of the pathogenicity of *Escherichia coli* in Chicks, *Acta Veterinaria et Zootechnica 5fnica*, 1996; **27** (03): 247-253)



POHL P., MAINIL J.G. F17 positive *Escherichia coli*. *Vet. Rec.*, 1995, 137, 623-624.  
POHL, P. Les souches pathogènes d'*Escherichia coli*, histoire et classification. *Ann. Med Vet* 1993;**137**: 325-333

POURBAKHSI, SA, BOULIANNE, M, MARTINEAU-DOIZE, B., DOZOIS, CM, DESAUTELS, C and FAIRBROTHER J M - Dynamics of *Escherichia coli* infection in experimentally inoculated chickens, - *Avian Diseases*, 1997 b; **41**:221 - 233.

POURBAKHSI, S.A, DHO-MOULIN, M, BREE, A, DES AUTELS, C, MARTINEAU-DOIZE, and FAIRBROTHER, JM - Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic *Escherichia coli*. *Microbial Pathogenesis*, 1997 a; **22**:331-341

PROVENCE D.L., CURTISS III R. Isolation and characterization of a gene involved in hemagglutination by an avian pathogenic *Escherichia coli* strain. *Infect. Immun.*,1994; **62**: 1369-1380.

ROSENBERGER, JK, FRITES, PA, CLOUD, S.S. and WILSON, RA - In vitro and in vivo characterization of avian *Escherichia coli* II, Factors associated with pathogenicity. *Avian Diseases*, 1985; **29**:1094-1107.

SADLER, R and EDGAR, S A - Importance of the bursa of Fabricius in resistance to disease. Resistance to two bacterial diseases. *Poultry science*, 1969;**48**: 1090-1096

SALVADORI M.R., YANO T., CARVALHO H.F., PARREIRA R., GYLES C.L. Vacuolating cytotoxin produced by avian pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Dis.*2001;**45**: 43-51.

SATO, S, NONOMURA, I. and HASHIMOTO, K - *Escherichia coli* serotypes isolated from chickens infected with *Mycoplasma gallisepticum*. *National Institute of Animal Health Quarterly*, 1972; **12**: 63 - 68.

SCHMIDT, GP, DOMERMUTH, CH. and POTIER LM. - Effect of oral *Escherichia coli* inoculation on performance of young turkeys. *Avian Diseases*, 1988, 32, 103-107.

SEKIZAKI, T. TERAKADO, N and HASHIMOTO K - Cloning and comparison of heat-stable enterotoxin genes from *Escherichia coli* strains of bovine, porcine, and avian origins, -*Am. J Vet. Res*" 1984; **45**:314.

SMITH, HW, COOK, J.K.A and PARSELL, ZE - The experimental infection of chickens with mixtures of infectious bronchitis virus and *Escherichia coli*-*Journal of General Virology*, 1985; **66**:777-786.

SOJKA W.J., CARNAGHAN R.B.A.: *Escherichia coli* infection in poultry. *Res. Vet .Sci* 1961; **2**: 340.

SPRINGER, WT, LUSKUS, C. and POURCIAU, SS - Infectious bronchitis and mixed infections of *Mycoplasma synoviae* and *Escherichia coli* in gnotobiotic chickens, 1. Synergistic role in the airsacculitis syndrome. *Infection and Immunity*, 1974; **10**: 578-58.

STORDEUR P., MARLIER D., BLANCO J., OSWALD E., BIET F., DHO-MOULIN M, MAINIL J. Examination of *Escherichia coli* from poultry for selected adhesin genes important disease caused by mammalian pathogenic *E. coli*. *Vet. Microbiol.*, 2002; **84**: 231-241.

SUWANICHKUL, A and PANIGRAHY, B. - Biological and immunological characterization of pili of *Escherichia coli* serotypes O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, and O<sub>78</sub> pathogenic to poultry. *Avian Diseases*, 1986; **30**:781

SUWANICHKUL, A, PANJGRAHY, B. and WAGNER, RM. - Antigenic relatedness and partial amino acid sequences of pili of *Escherichia coli* serotypes O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub> 811d 078 pathogenic for poultry. *Avian Diseases*, 1987;**31**: 809-813.

TSUJI, T, JOY A, JE, YAO, S., HONDA T. and MIW ATANI, T - Purification and characterization of heat-labile enterotoxin isolated from chicken enterotoxigenic *Escherichia coli* . *FEMS Microbiol, Lett*" 1988;**52**: 79.

VALVANO, M.A. - Diphenylamine increases cloacin DF13 sensitivity in avian septicemic strains of *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol*, 1992; **32**: 149.

VAN DEN BUCK, J v., ALLAN, B.J, RIDDELL, C, WATTS, T. and POTTER, AA. Effect of infection with hemorrhagic enteritis virus on susceptibility of turkeys to *Escherichia coli*. *Avian Dis*, 1994; **38**:708-716,

VIDOTTO M.C., CACAO J.M., GOES C.R., SANTOS D.S. Plasmid coding for aerobactin production and drug resistance is involved in virulence of *Escherichia coli* avian strains. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1991 ; **24** : 677-685.

VILLA TE, D. - *Maladies des volailles* - 1997, Ed France Agricole.

VILLATE D. *Maladie des volailles*. 2<sup>ème</sup> édition 2001 ;237 – 242

WHITE D. G., DHO-MOULIN M., WILSON R. A. and WIDTTAM T. S. Clonal relationships and variation in virulence among *Escherichia coli* strains of avian origin. *Avian diseases*, 1993; **14**: 399-409.

WHITE D.G., WILSON R.A., SAN GABRIEL A., SACO M., WHITTAM T.S. Genetic relationships among strains of avian *E. coli* associated with swollen head syndrome. *Infect. Immun.*, 1990; **58**: 3613-3620.

WHITEMAN. C.E., BICKFORD A.A: EDS. *Avian disease manuel* 3<sup>rd</sup> ed dubrique IOWA: kandal hunt publishing, CO. 1989

WHITTAM, T.S. and WILSON, R.A. Genetic relationships among pathogenic strains of avian *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 1988; **56**: 2458-2466.



WIDTE, D.G., WILSON, RA, SAN GABRIEL, A, SACO, M and WHITTAM, T.S.  
Genetic relationships among strains of avian *Escherichia coli* associated with swollen-head syndrome. *Infection and Immunity*, 1990; **58**: 3613.

WILLIAMS P.H. Novel iron uptake system specified by ColV plasmids :an important component in the virulence of invasive strains of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 1979; **26**: 925-932.

WILLIAMS, P.H., ROBERTS, M. - Iron scavenging li1 the pathogenesis of *Escherichia coli*. Dans « Genetics of bacterial diversity ». Academic Press Publishers. Ed Hopwood D.A. et Charter K.F., 1989; 331 - 350,

WOOLEY R.E., GIBBS P.S., BROWN T.P., MAURER J.J. Chicken embryo lethality assay for determining the virulence of avian *Escherichia coli* isolates. *Avian Dis.*,2000; **44**: 318- 324.

WOOLEY, R.E., BROWN, J, GIBBS, PS, NOLAN, LK and TURNER, KR. Effect of normal intestinal flora of chickens on colonization by virulent colicin V-producing, avirulent, and mutant colicin V-producing avian *Escherichia coli* . *Avian Diseases*, 1994; **38**: 141-145

YODER, B.W, BEARD, C W and MITCHELL, B.W - Pathogenicity of *Escherichia coli* in aerosols for young chickens. *Avian Diseases*, 1989;**33**:676-683

YOGARATNAM V. Analysis of the causes of high rates of carcass rejection at a poultry processing plant. *Vet. Rec.*,1995; **137**: 215-217.

## ***Illustrations et annexes***

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>Figure 1</b> : Disposition des sacs aériens (vu latérale)	17
<b>Figure 2</b> ; Représentation du trajet des gaz à l'inspiration et à l'expiration	18
<b>Photo 01</b> : Péricardite, et périhépatite lors d'une colibacillose aviaire	23
<b>Photo 02</b> : Colisepticémie : carcasse rouge, foie dégénéré et aspect luisant	25
<b>Photo 03</b> : Omphalite sur un poussin (abdomen distendu)	26
<b>Photo 04</b> : Salpingite colibacillaire de la poule, l'uterus contient un boudin caséeux	27
<b>Tableau 1</b> : Variation du pourcentage de mortalité en fonction de la souche des poulets	44
<b>Tableau 2</b> : Variation du pourcentage de mortalité en fonction de l'âge	45

## PARTIE EXPERIMENTALE

### CHAPITRE I

<b>Tableau 1</b> : Lots d'essai (modalité d'administration)	64
<b>Tableau 2</b> : Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai (Lot I)	66
<b>Tableau 3</b> : Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai (Lot AS1)	67
<b>Tableau 4</b> : Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai et ceux euthanasiés à J6 (Lot I)	67
<b>Tableau 5</b> : récapitulatif des résultats de l'essai	68

### CHAPITRE II

<b>Tableau 1</b> : Tableau récapitulatif du protocole	79
<b>Tableau 2</b> : Résultats récapitulatifs des consommations d'eau et d'aliment, de la croissance des quatre lots pour chacune des périodes suivies	81
<b>Tableau 3</b> : Mortalité cumulée à j5 et j9 pour chacun des quatre lots	82
<b>Tableau 4</b> : Mortalité cumulée à j5 et j9 à partir de j1 (9h) pour chacun des trois lots	83
<b>Tableau 5</b> : Répartition de la morbidité cumulée par classe de gravité de j1 à j5	85
<b>Tableau 6</b> : Scores lésionnels des animaux survivants	87

<b>Tableau 7</b> : Scores lésionnels des animaux morts	88
<b>Tableau 8</b> : Poids moyen (g) des animaux des trois lots euthanasies à j9 (moyenne +écart type)	88
<b>Tableau 9</b> : Récapitulatif des résultats de croissance et d'indice de consommation	92
<b>Graphique 1</b> : Mortalité par lot de j1 à j5	83
<b>Graphique 2</b> : Mortalité par lot de j1 à j9	83
<b>Graphique 3</b> : Evolution de la note de morbidité	84
<b>Graphique 4</b> : Répartition de la morbidité cumulée de j1 à j5 par classe de gravité	86
<b>Graphique 5</b> : Evolution de la consommation d'eau par poulet et par jour	90
<b>Graphique 6</b> : Consommation d'aliment en poucentage du lot E	91
<b>Annexe I</b> : Récapitulatif des données du calcul des doses de traitement, des volumes hydriques de répartition et des quantités réellement prises	

### CHAPITRE III

<b>Tableau 1</b> : Pourcentage de mortalité quotidienne par groupe	102
<b>Tableau 2</b> : Mortalité cumulée au cours de l'essai	103
<b>Tableau 3</b> : Morbidité cumulée à 13	104
<b>Tableau 4</b> : Morbidité cumulée à J8	104
<b>Tableau 5</b> : Morbidité cumulée à J11	104
<b>Tableau 6</b> : Moyenne quotidienne des scores de morbidité rapportée à 100 poulets	105
<b>Tableau 7</b> : Evolution des scores lésionnels des morts au cours de l'essai	108
<b>Tableau 8</b> : Répartition des scores lésionnels des poulets sacrifiés à J11	107
<b>Tableau 9</b> : Poids des poulets à J-1 et J11	109
<b>Tableau 10</b> : GMQ de J-1 à J11	109
<b>Tableau 11</b> : Consommation alimentaire par groupe avant et après l'inoculation (en kg)	110
<b>Tableau 12</b> : Consommation alimentaire (en g) et indice de consommation par poulet au cours de l'essai	110
<b>Tableau 13</b> : Consommation d'eau quotidienne des poulets par lot (en ml/poulet/j)	111
<b>Graphique 1</b> : Evolution de la mortalité au cours de l'essai	102
<b>Graphique 2</b> : Représentation de la mortalité cumulée	103
<b>Graphique 3</b> : Evolution de la morbidité au cours de l'essai	106
<b>Graphique 4</b> : Evolution de la consommation d'eau au cours de l'essai	112
<b>Annexe I</b> : Posologies réelles reçues par les poulets	
<b>Annexe 2</b> : Mortalité quotidienne	

## Chapitre II : Partie Expérimentale

### Annexe 01

Récapitulatif des données du calcul des doses de traitement, des volumes hydriques de répartition et des quantités réellement prises

	LOT F					LOT B				
	J1	J2	J3	J4	J5	J1	J2	J3	J4	J5
Effectif	83	56	40	39	39	73	51	37	35	35
Poids du lot	54	36,4	27,2	27,3	27,3	48	33,1	25,5	24,5	24,5
Dose principe actif (mg)	972	655	490	491	491	480	331	255	245	245
Volume de spécialité (ml)	10	6,5	4,9	5	5	5	3,3	2,5	2,5	2,5
Volume de répartition (l)	5	3,3	5	7	7	4,5	2,5	4	6	6
Volume de spécialité (ml)		13	6				6,6	3		
Volume de répartition (l)		6,6	6**				5	5**		
Quantité bue réellement (l)	3,3*	5,1	6	6	6,9	2,5*	4,1	5,1	5,1	5,3
<b>% dose prévue</b>	<b>0,66</b>	<b>1,54</b>	<b>1,2</b>	<b>0,85</b>	<b>0,98</b>	<b>0,55</b>	<b>1,64</b>	<b>1,2</b>	<b>0,85</b>	<b>0,88</b>

\* les animaux les plus gravement atteints ne se déplacent pas pour aller boire, ce qui explique la sous consommation constatée

\*\* 4 l d'eau pure rajoutée le soir car abreuvoirs presque vides.

## ANNEXE 2

### Mortalité par groupe et par jour

Somme des morts du soir de Jx du matin de J x+1 / effectif à Jx matin

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	
Lot A	1/484	4/483	6/479	15/473	15/458	23/443	21/420	10/399	
Lot B	1/484	2/483	6/481	9/475	21/466	22/445	11/423	12/412	
Lot C	1/196	0/195	5/195	7/190	6/183	11/177	11/166	7/155	
Lot D	0/1043	0/1043	2/1043	1/1041	1/1040	2/1039	0/1037	0/1037	

# استنساخ مرض الكوليباسلوز عند الدجاج تجريبيا مقارنة فعالية الفلومكويين و الأموكسيسلين مع الأنروفاوكساسين في علاج هذا المرض

## ملخص

إن عدوى *Eischérichia Coli* ، التي تصيب بصفة خاصة الدواجن ، هي المسؤولة عن خسائر اقتصادية كبيرة في تربية الدواجن. وبعد القيام بعرض معلومات ببيوغرافية يتناول المؤلف مختلف العوامل التي تدخل في نشر المرض. و المستخلص من هذه المعلومات نقوم في بادئ الأمر بإنشاء اختبار تجريبي في استنساخ الكوليباسلوز على الدجاج الذين تتراوح أعمارهم بين ثلاثة أسابيع تم تلقيح مع سلالة من الكوليباسيل 078K80 عن طريق الأيروسول أو التلقيح العضلي بجرعتين مختلفتين (الأيروسول) مع أو بدون أو بلا توتر (سحب مؤقت من للطعام والماء ، والأمونياك) و هذا من أجل الحصول على كوليباسلوز الدواجن مشابهة للمرض الطبيعي. أما بالنسبة المجموعة من الدجاج التي لقت عن طريق التلقيح العضلي كانت فأظهرت اضطرابات مرضية subclinical علامات تدهور الأداء (مؤشر النمو والاستهلاك). تجربة أخرى من تجارب استنساخ كوليباسلوز. الدجاج تعرض لإصابة شديدة من نوع كوليباسلوز لمقارنة فعالية العلاج Flumequine مقارنة مع اشارة Enrofloxacin. فعالية العلاج والتكافؤ العلاجين الآخرين قد أثبتوا عدد كبير من الوفيات من اليوم J1 إلى J10 ، إلى جانب انتشار الأمراض خلال فترة العلاج ، وإصابة العشرات من الحيوانات و انخفاض وزنا عند نهاية التجربة. هذا التكافؤ الناجح أو الفعال نتج بفضل معايير استهلاك المياه والأعلاف الحيوانية مؤشر الاستهلاك والنمو. في آخر التجربة تمكنا من إيجاد colisepticémie الصحيح بعد التطعيم العضلي سلالة من *E.coli* في جرعة من  $0,5.10^7$  CFU. ثم العلاجين الذين جربا ألا و هما Amoxicillin و Enrofloxacin اللذان أظهرنا نجاحا كبيرا و فعالية جد عالية في معالجة عدوى الكوليباسلوز.

**الكلمات الرئيسية :** الكوليباسلوز طريق الحقن ، الدجاج ،  
البكتريولوجيا ، و amoxicillin ، Enrofloxacin ، Flumequine ، المرض  
*E.coli* ،

**Reproduction of an experimental colibacillosis in chickens  
Comparison of the efficacy of Amoxicillin and Flumequine  
compared to a reference Enrofloxacin in the treatment of this  
pathology.**

**Abstract**

The *Eischéria Coli* infections, especially in poultry, are responsible for significant economic losses in poultry farming. After a review of bibliographic knowledge, the author addresses the various factors involved in the standardization of the disease. The synthesis of these data is derived in the first step the establishment of a test for experimental reproduction of colibacillosis on chickens aged three weeks were inoculated with a strain of *E. coli* O78K80 aerosol or intramuscularly with two different doses (aerosol) with or without added stress (temporary withdrawal of food and water, ammoniac) to reproduce an avian colibacillosis similar to the natural disease. A single batch inoculated intramuscularly disorders presented with subclinical signs of deteriorating performance (growth and consumption index). Another test of the experimental reproduction of colibacillosis was carried out on chickens subjected to particularly severe infection colibacillaire to compare the effectiveness of treatment with Flumequine compared to a reference Enrofloxacin. The effectiveness of treatment and equivalence of the two treatments have been demonstrated for the criteria of cumulative mortality from the first day j1 to j10, morbidity combined during the treatment period, the injury scores of dead animals and animal weight at the end of the trial. This equivalence of effectiveness is suggested by the criteria of water consumption, feed, animal growth and consumption index. At the last test we were able to cause an intensity colisepticémie correct after intramuscular inoculation of a strain of *E coli* at a dose of  $0,5 \cdot 10^7$  CFU . Then the two anti-infectives tested with Amoxicillin and Enrofloxacin showed a comparable efficacy in the treatment of colibacillosis.

**Keywords:** Colibacillosis way of inoculation, chicken, bacteriology, Flumequine, Enrofloxacin, amoxicillin, pathogenesis. *E. Coli*



# REPRODUCTION PAR VOIE AEROSOL D'UNE COLIBACILLOSE AVIAIRE

Reçu le 05 février 2006– Accepté le 07/04/2008

## Résumé

Cinq lots de poulets âgés de trois semaines ont été inoculés avec une souche de colibacille O78K80 en aérosol ou par voie intramusculaire avec deux doses différentes (aérosol) avec ou sans stress additionnel (retrait temporaire d'eau et d'aliment, ammoniac) de façon à reproduire une colibacillose aviaire proche de la maladie naturelle. Seul le lot I inoculé par voie intramusculaire a présenté des troubles subcliniques avec détérioration des indices de performances (croissance et indice de consommation).

**Mots-clés :** *E.coli, inoculation voie, poulet, bactériologie.*

## Abstract

Five shares of poultry aged 3 weeks have been inoculated with a kind of E.Coli O78K80 in the aérosol or by intramuscular way with 2 different doses aérosol with or without water, food and ammoniac for a moment in such a way as to reproduce poultry colibacillosis near to the natural disease. The share I which is inoculated by the intramuscular way is the only who has represent a subclinical troubles with deterioration in the indice of performances (growth, indice of consummation).

**Key-words :** *E.coli, inoculation way, poultry, bacteriology.*

C. BENSARI<sup>1</sup>  
P. BEZILLE<sup>2</sup>  
D. KHELIFI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Département des Sciences  
Vétérinaires, Université  
Mentouri Constantine.  
Algérie

<sup>2</sup> Service Pathologie du  
Bétail et Animaux de Basse  
Cour, E N V Lyon France

<sup>3</sup> Département de Biologie,  
Université Mentouri  
Constantine. Algérie

5

خمس حصص من الدجاج أعمارهم 3 أسابيع ل قحوا مع جدل من نوع الكولباسيلوز بطريفة ضبيبية أو  
ضمعلية مع كميتين مختلفتين (ضبيبية) بكرب أو بدون كرب (بنزع مؤقت للماء و للغداء و الأمونيك) و  
هدا من أجل معاودة أنتاج الكولباسيلوز قريبة من المرض الطبيعي ألا الحصدة الملقحة بالطريفة  
الضبيبية وحدها التي قدمت اضطرابات عيادية مع تفه قر في النتائج ( نمو و دليل الاستهلاك).

• Û      È ù z □ Ó z □ • E : م " " Ô ‡ z □ □ ¶ " • Û  
E coli ¶ □ Ó ‡ □ z ¶

a colibacillose aviaire est une pathologie dominante dans les problèmes respiratoires des volailles en élevage industriel. C'est une maladie infectieuse, contagieuse, inoculable dans certaines conditions, due le plus souvent à des souches de sérotypes O1K1, O2K1 et O78K80 réputés hautement pathogènes [1 – 6].

Cette affection à point de départ respiratoire est secondaire à une infection virale ou mycoplasmaïque, elle se traduit cliniquement par des lésions fibrineuses des séreuses (péricardite, péri hépatite et conduit par la suite à une septicémie entraînant la mort de l'animal.

Son importance hygiénique est pratiquement nulle, bien que quelques souches pathogènes pour les volailles se rencontrent également dans les néphrites et les cystites de l'homme [3]. Ces dernières années l'incidence de la maladie s'est notablement accrue, cette augmentation est imputable au développement des méthodes d'élevage intensif dans tous les secteurs de l'aviculture, la colibacillose est une des principales causes de la mortalité chez les poulets et les dindes et la cause significative des pertes économiques dans l'élevage industriel des volailles. Les pertes dues à la colibacillose sont si importantes que l'on doit s'attacher à trouver un traitement ou une prophylaxie efficace [7].

Son importance économique est considérable. Les pertes dues à la colisepticémie correspondent aux mortalités observées aux contre performances économiques des lots infectés aux troubles de la reproduction, chute de l'éclosabilité, augmentation de la mortalité en coquille ou pendant les premiers jours [8].

L'inoculation d'*E.coli* dans les sacs aériens des poulets exempts d'agents pathogènes spécifiques et âgés de 2 à 10 semaines provoque le développement des lésions oculaires. L'histopathologie révèle qu'elle se caractérise par de l'hypopyon, de la kératite et de l'uvéite. L'hyphéma s'accompagne d'hémorragies iridiennes à l'hypopyon, de kératite et de l'uvéite, il cause aussi des septicémies aviaires à colibacilles. Les souches d'*E.coli* positives au Rouge Congo sont responsables de la septicémie aviaire. Dans l'ensemble, *E.coli* est une infection économiquement dévastatrice dans les élevages de poulets [9, 10].

Aux USA les pertes annuelles dues à la colibacillose (colisepticémie) sont estimées à 18-20 Millions de Dollars [11], au Japon les pertes dépassent chaque année 60 Millions [12].

L'objectif de notre essai est de standardiser un protocole de reproduction expérimentale de colibacillose aviaire proche de la maladie naturelle par infection par voie aérienne permettant d'obtenir en 5 jours, 5 à 10% de mortalité et 20 à 30% de morbidité pour pouvoir établir un traitement ou une prophylaxie efficace.

## **MATERIELS ET METHODES**

### **Protocole de l'essai**

5 lots de poulets de 3 semaines ont été inoculés avec une souche de colibacille O78K80 en aérosol ou par voie intramusculaire avec deux doses différentes (aérosol), combinées ou non avec un stress additionnel de façon à reproduire une colibacillose aviaire proche de la maladie naturelle.

Inoculés à J0, les 25 animaux de chaque lot seront suivis cliniquement jusqu'à J5 et les survivants euthanasiés et autopsiés à J6. Les critères de suivi ont porté sur :

- La mortalité,
- la morbidité,
- la clinique
- et les lésions (score lésionnel)

La durée de l'essai est de 05 jours avec une inoculation à J0, une euthanasie et autopsie à J6.

## **Animaux et animalerie**

Cent cinquante (150) poulets de race Ross Jaune de sexe mâle et femelle, âgés de trois semaines indemnes de maladies intercurrentes au moment de l'expérimentation et de poids moyen identique ont été répartis en six lots.

Tous les poulets ont été pesés et Identifiés individuellement par bague alaire numérotée.

Outre l'examen global des animaux livrés, un contrôle sanitaire a été effectué sur un échantillon de dix poulets prélevés au hasard. Ce contrôle comprenait, outre l'examen clinique et nécropsique, la recherche au laboratoire d'infestation parasitaire digestive notamment de coccidiose et la vérification d'absence d'infection salmonellique. Les résultats devaient être négatifs pour l'inclusion dans l'essai.

Les animaux ont été entretenus au sol sur une litière de copeaux avec une densité de dix par mètre carré. Le matériel d'alimentation, d'abreuvement et de chauffage approprié avait été mis en place et identifié pour chaque lot.

Les abreuvoirs siphoniques étaient suspendus à un peson à cadran permettant de relever par différence la consommation quotidienne d'eau.

Les animaux ont été nourris avec un aliment du commerce sans additifs autre que l'anticoccidien.

## **Infection expérimentale : Bactérie, espèce et sérotype**

- ***E. Coli O78K80*** : il s'agit d'une souche septicémique pathogène chez la volaille sensible à la fluméquine et l'amoxicilline, conservée dans la souchothèque du laboratoire et dont les caractéristiques sont bien connus de nous car elle a été utilisée pour tous les précédents essais d'évaluation thérapeutique.

## **Préparation de l'inoculum bactérien**

Une succession de subcultures, d'abord sur gélose au sang (Biomérieux) puis en bouillon sur Z média a permis d'obtenir au bout de 24 heures une culture titrant  $10^7$  à  $10^8$  CFU/ml.

Une succession de lavage en PBS et centrifugation avec, à la fin, remise en suspension a fourni l'inoculum final qui a été congelé à  $-80^\circ\text{C}$  en alicot de 5 ml jusqu'au jour d'utilisation. Un contrôle d'identité et pureté a été effectué aux différentes étapes de la préparation.

## **Modalités d'administration**

1. **Lot A1** : 25 poulets ont été inoculés par voie aérosol avec une dose d'*E. coli* O78K80 titrant  $10^7$  CFU/ml et sans stress additionnel (retrait d'aliment, d'eau et présence d'ammoniac 50 PPM dans l'ambiance).
2. **Lot A2** : 25 poulets ont été inoculés par voie aérosol avec une dose d'*E. coli* O78K80 titrant  $10^8$  CFU/ml et sans stress additionnel.
3. **Lot AS1** : 25 poulets ont été inoculés par voie aérosol avec une dose d'*E. coli* O78K80 titrant  $10^7$  CFU/ml avec un stress additionnel (retrait d'aliment, d'eau et présence d'ammoniac 50 PPM dans l'ambiance).
4. **Lot AS2** : 25 poulets ont été inoculés par voie aérosol avec une dose d'*E. coli* O78K80 titrant  $10^8$  CFU/ml avec un stress additionnel (retrait d'aliment, d'eau et présence d'ammoniac 50 PPM dans l'ambiance).
5. **Lot I** : 25 poulets ont été inoculés par voie intramusculaire avec une dose d'*E. coli* O78K80 titrant  $10^7$  CFU/ml et sans stress additionnel.

6. **Lot O** : 25 poulets utilisés comme témoins négatifs qui n'ont subis qu'un stress (retrait d'aliment et d'eau) et sans inoculation par la souche d'*E. coli* O78K80.

### Planning du Stress

- J-4 (J moins 4): Introduction des animaux.

- J-1 (J moins 1): Les poulets des lots O, AS1, AS2 (N°6, N°3 et N°4 respectivement) ont subi un stress : retrait d'aliment de 8 à 14h ou 20h (selon réponse), la concentration d'Ammoniac 50 PPM dans l'ambiance de 8h à 12 ou 14h (selon réponse), Suppression de l'eau d'abreuvement à 20h.

- à J0 (J zéro): une inoculation a eu lieu pour tous les poulets à 8h du matin, les lots A1, A2, AS1, AS2 ont été Inoculés par voie aérosol, le lot O a été Inoculé par voie intra musculaire (IM).

- Remettre l'eau à 12h ou 16h pour les lots O, AS1, AS2 (selon réponse).

L'utilisation de l'aérosol a nécessité de calculer le volume de l'inoculum à aérosoliser, la pression de dispersion, le temps de dispersion, la hauteur à respecter au dessus des oiseaux.

Différents essais de dispersion et le relevé des recommandations formulées par Intervet pour les vaccinations en aviculture par ce moyen nous ont conduit à répartir les doses de colibacilles à inoculer par lot sous un volume de 125 ml appliqué en 30 secondes sur 25 poulets répartis sur 5 m<sup>2</sup> à 30 cm au dessus d'eux avec une température ambiante de 17°C, ventilation arrêtée.

D'après les indications du fabricant de l'appareil utilisé pour la production de l'aérosol, la taille moyenne des gouttelettes était de 20µ. La dose totale dispersée en aérosol était 10 fois la dose théorique efficace par voie intramusculaire. [13]

**Tableau n°01** Lots d'essai (Modalités d'administration)

Lot	O	I	A1	A2	AS1	AS2
Inoculation	-	IM	Aérosol	Aérosol	Aérosol	Aérosol
Doses O78K80	Témoin négatif	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>
Stress	+	-	-	-	+	+
Nombre animaux	25	25	25	25	25	25

### **Critères de suivi et d'enregistrement**

Une fiche d'enregistrement spécifique par lot était établie pour chaque critère.

- **Poids** : J0 à J fin (par lot)

- **Morbidité** : enregistrement quotidien par lot : Du nombre de malade et de la nature des symptômes (généraux, respiratoires, digestifs, nerveux, locomoteurs)

- **Notation de la morbidité** : La morbidité au seins des différents a été notée sur une échelle de 0 à 4 :

Note 0 : Animal normal

Note 1 : Abattu

Note 2 : Abattu, œil mi-clos, couché, déplacement spontané

Note 3 : Idem 2, se déplace si sollicité

Note 4 : Idem 2, ne se déplace plus quand sollicité

- **Mortalité** : Enregistrement quotidien du nombre de poulets morts par lot.

**- Consommation d'eau :**

▪ Lots A1, A2, AS1: en litre / lot

▪ Lots O, I, AS2: en litre / lot

- La consommation en eau est relevée toutes les 4h entre 8h et 20h (8h, 12h, 16h, 20h).

- Avant les prélèvements de la consommation d'eau, observer les lots 2 fois par jour, à compter de J1, pendant 30 minutes chacun des lots :

- Lot O : 8h et 11h 30

- Lot I : 8h 30 et 12h

- Lot AS2: 9h et 12h 30,

de façon à noter le nombre et l'état clinique des sujets venant boire.

- **Consommation d'aliment** : Kg / lot / durée de l'essai.

- **Lésions** : enregistrement suivant une grille de notation permettant de calculer un score lésionnel chez : Les animaux morts en cours d'essai et les animaux euthanasies en fin d'essai.

**Notation des lésions de 0 à 4**

**Note 0** : état normal

**Note 1** : discrètes flammèches de fibrine (foie, cœur) ou légère opalescence (sacs aériens)

**Note 2** : fibrine ne recouvrant pas tout l'organe ou en faible épaisseur (foie, cœur) début de dépôt de fibrine (sacs aériens)

**Note 3** : fibrine recouvrant tout l'organe sur une faible épaisseur (foie, cœur), dépôt de fibrine étendu (sacs aériens)

**Note 4** : fibrine recouvrant tout l'organe sur une forte épaisseur (foie, cœur), dépôt de fibrine recouvrant complètement les sacs aériens

**Analyses du laboratoire**

- Bactériologie à partir des 2 premiers sujets morts des groupes inoculés et s'il y a lieu des 2 premiers morts du groupe O.

**RÉSULTATS ET DISCUSSION**

Les résultats sont présentés dans les tableaux 2 à 5.

L'analyse devant permettre de définir le protocole le mieux adapté à une reproduction expérimentale de la maladie sur un effectif plus important en conditions d'élevage.

**Tableau n°02** : Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai (Lot I)

N° Animal	Date de mort	Etat général	Poids	Observations	Péricarde	Foie	Sacs aériens	Note moyenne individuelle
3896	J5	M	815g		4	4	4	4,0
3878	J5	M	868g		4	4	4	4,0
Sans n°	J5	M	841g		4	4	4	4,0
3883	J5	M	1013g		4	4	4	4,0
3876	J5	M	791g		4	4	4	4,0
3866	J6	M	770g		4	3	3	3,3
3888	J6	BM	1080g	Péritonite	4	4	4	4,0
3885	J6	M	900g		4	4	4	4,0
Moyenne /Lot								3,9
Ecart Type								0,24

**Notation** : O : Normal 1 : Léger 2 : Moyen 3 : Intense 4 : Très intense et étendu

B : Bon BM : Bon – TB : B+ M : Mauvais

**Tableau n°03** Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai (Lot AS1)

N° Animal	3955
Date de mort	
Etat général	
Poids (g)	725
Observations	occidiose++
Période	
Foie	
Sacs aériens	
Note moyenne individuelle	

**Notation** : O : Normal 1 : Léger 2 : Moyen 3 : Intense 4 : Très intense et étendu  
 B : Bon BM : Bon – TB : B+ M : Mauvais

**Tableau n°04** Score lésionnel des animaux morts pendant l'essai et ceux euthanasiés à J6 (Lot I)

N° Animal	Etat général	Observations	Période	Foie	Sacs aériens	Note moyenne individuelle
3866	M	Mort j6	4	3	3	3.3
3876	M	Mort j5	4	4	4	4.0
3878	M	Mort j5	4	4	4	4.0
3879	M		4	3	1	2.7
3880	EM	Inoculation 0	0	0	0	0.0
3881	B		4	4	2	3.3
3882	B		1	0	1	0.7
3883	M	Mort j5	4	4	4	4.0
3884	TB		2	2	2	2.0
3885	M	Mort j6	4	4	4	4.0
3887	EM		0	1	1	0.7
3888	EM	Mort j6	4	4	4	4.0
3889	M	Inoculation 3	0	0	1	0.3
3890	EM		4	3	2	3.0
3891	M	Inoculation 0	0	0	0	0.0
3892	TB	proventriculite	0	0	0	0.0
3893	EM	Inoculation 4	0	0	0	0.0
3894	B	1100g	4	4	4	4.0
3895	EM		4	0	1	1.7
3896	M	Mort j5	4	4	4	4.0
3897	EM		0	0	1	0.3
3898	TB	Inoculation 0	0	0	0	0.0
3899	B	Bursite	0	0	0	0.0
3900	TB		3	2	2	2.3
Sans*	M	Mort j5	4	4	4	4.0
Moyenne/Lot			2.3	2.0	2.0	2.1
Ecart type			1.91	1.83	1.62	1.71

**Notation** : O : Normal 1 : Léger 2 : Moyen 3 : Intense 4 : Très intense et étendu  
 B : Bon BM : Bon – TB : B+ M : Mauvais

**Tableau n°05** Récapitulatif des résultats de l'essai

	Lot O	Lot I	Lot A1	Lot A2	Lot A21	Lot A22
Efficacité	25	25	25	25	25	25
Efficacité	25	17	25	25	24	25
Plus de morts	0	8	0	0	1	0
% de mortalité	0%	32%	0%	0%	4%	0%
Score lésionnel (moyenne total lot)	-	2.1	-	-	0	-
Score lésionnel (moyenne poult survivant)	0	1.2	0.2	0	0	0
Score lésionnel (moyenne poult mort)	-	3.9	-	-	0	-
Ecart type (moyenne poult mort)	-	0.24	-	-	0	-
Consommation Aliment Pf	35.5	25	35	35	35.4	35.4
	Pf	12.5	13.5	11.1	12.1	14
Consommation aliment (total Kg)	23	11.5	23.9	24	23.4	21.4
Consommation/poult/jour (Kg)	0.153	0.079	0.159	0.140	0.140	0.143
Consommance Pf	22.2	21.9	22.4	21.9	20.9	21.7
Pf	35.8	29.3	37.9	37.5	33.4	34.3
Total	13.4	7.4	15.5	15.4	12.5	12.4
Consommance totale : Pf (pf + P morte) (Kg)	5.5	4.44	9.3	9.34	7.5	7.54
IC	2.71	2.59	2.57	2.54	3.12	2.83
Volume total absorbé (L)	43.4	22.4	39.2	41.4	44.9	37.3
Absorbement/poult/J (L)	0.291	0.154	0.241	0.274	0.308	0.249
O Eau/O aliment	1.90	1.97	1.44	1.73	1.92	1.74

## Discussion

### Reproduction de la colibacillose

#### - Lot I :

- La reproduction par voie IM a très bien réussi
- Pas de mortalité avant J5
- 32% de morts au total
- Score lésionnel 3.9 (sujets morts pendant l'essai) et 1.2 (survivants)
- Réduction de 50% de la consommation alimentaire et d'eau par rapport au lot témoin

#### - Lot témoin (Lot O):

- Aucune morbidité, ni mortalité, malgré le stress (ammoniac, retrait temporaire d'aliment et d'eau auquel il a été soumis comme les lots AS1 et AS2)

- Les résultats zootechniques (consommation d'aliment, d'eau, croissance, IC) sont conformes aux prévisions compte tenu, des caractéristiques de l'aliment, de la densité des animaux (10 par mètre<sup>2</sup>) et de la température du local (17°C).

-

On notera un rapport de 2 existant entre la consommation d'eau et d'aliment.

#### - Lots A1 et A2 : Infectés par voie aérosol (dose 1 et dose 2)

- Les résultats zootechniques équivalents et même supérieurs à ceux des témoins.

- L'infection n'a eu aucune conséquence sur les performances.

- Une discrète morbidité a été notée à J2 et J3 pour s'estomper à J4 et disparaître ensuite (lot A1).

- Il n'y a pas eu de mortalité et le score lésionnel est de 0.2 (lot A1) et 0 (lot A2), très insuffisant pour être utilisé pour des essais de traitement.

#### - Lots AS1 et AS2 : Infectés avec stress adjuvant (dose 1 et dose 2).

- Les résultats cliniques sont comparables à ceux des lots A1 et A2.

- Discrète morbidité à partir de J2 persistant jusqu'à J5 (lot AS2) ou diminuant progressivement pour disparaître à J5.

- Un seul mort (lot AS1) lié à une coccidiose.

- Le score lésionnel de ces deux lots est de 0.

- L'infection et le stress ont eu cependant des conséquences sur les performances zootechniques (croissance total et IC).

- Ces performances sont inférieures à celle des témoins mais cependant difficile à exploiter dans le cadre d'un essai thérapeutique.

## Discussion du protocole

L'infection par voie aérosol avec ou sans stress a donc échoué, ce qui amène à discuter les différents paramètres de l'essai.

### Influence de la souche et de la dose d'infection

La souche utilisée est efficace vu les résultats obtenus par voie IM (lot I). La dose utilisée en aérosol est près de 100 fois supérieure à celle utilisée par voie IM.

Malgré une pression d'infection élevée avec une souche active, celle-ci n'avait pu dépasser les moyens de défenses naturelles des oiseaux insuffisamment réduite par le confinement 12h à 50 PPM d'ammoniac (effet local sur les muqueuses respiratoires) et par les stress de privation temporaire d'aliment puis d'eau (effet dépresseur sur les moyens de défenses généraux).

La dose infectante n'a donc pas réussi à forcer la porte séparant le milieu extérieur du tractus respiratoire profond de l'oiseau, sans doute le confinement ammoniacal a réduit l'efficacité de l'épuration muco-ciliaire mais cela n'a pas été suffisant.

Il est probable que la perméabilité à l'infection ne peut être obtenue que par le passage préalable d'un virus à tropisme respiratoire provoquant une altération profonde des muqueuses respiratoires (ex : Virus de BI ou de la maladie de Newcastle) [12] [14] [15].

## **Analyse statistique**

L'analyse statistique effectuée sur les différents lots est un test de Student pour le cas des échantillons indépendants.

Les lots infectés et stressés ont enregistré un mort sur 50 animaux (soit une fréquence de 2%, lots AS1 et AS2).

Les lots I, A1 et A2 infectés et non stressés ont enregistré 08 morts sur 75 animaux (soit une fréquence de 10,67%).

L'étude statistique réalisée suivant le test de Student montre qu'il y a une différence très significative entre les deux échantillons  $t=0,94445$  ( $p<0.05$ ).

La mortalité enregistrée chez les animaux infectés par voie intramusculaire et non stressés (Lot I) était significativement supérieure à celle enregistrée chez les animaux infectés par voie aérosol et stressés (Lot AS1).

La dose d'*E. coli* inoculée par voie intramusculaire a bien été administrée et totalement par les animaux ; ce qui a permis de dépasser leurs moyens de défenses naturelles. Ce pendant, la dose administrée par voie aérosol n'a pas été totalement inhalée par les animaux car au moment de l'inoculation certaines gouttelettes se dispersent donnant ainsi des animaux infectés, moins infectés et d'autres totalement pas infectés ce qui explique la faible mortalité enregistrée dans ce cas.

La voie aérosol ne permet pas d'inoculer la quantité escomptée pour atteindre l'objectif visé à savoir l'installation de la contamination voire l'infection.

## **CONCLUSION**

Il ressort des résultats de l'essai effectué sur la comparaison des effets de l'inoculation de la souche d'*E. coli* de sérotype O78K80 administrée avec deux doses ( $10^7$  et  $10^8$  CFU/ml) et par deux voies (aérosol et IM) sur des poulets âgés de trois semaines combinées avec ou sans stress additionnel (retrait temporaire d'eau et d'aliment, ammoniac), que seul le lot I inoculé par voie IM a présenté des troubles subcliniques avec détérioration des indices de performances (croissance et IC).

Des taux de mortalité significativement différents ont également été observés entre deux échantillons distincts (éch1 = lots AS et AS2 et éch2 = lots I, A1 et A2). La mortalité élevée serait due au mode d'administration et à la quantité de l'inoculum ; car dans le cas de l'aérosol, nous avons noté une perte considérable, sous formes de gouttes, de l'inoculum.

Lors d'un prochain essai, il faut essayer de voir les effets de l'inoculation de la souche d'*E. Coli* sérotype O78K80 sur des poulets préalablement infectés par des virus immunodépresseurs (virus de la Bronchite infectieuse ou de la maladie de Newcastle) [16] [17].

## **REFERENCES**



- [1]- GROSS W.B. and SIEGEL P.B.: Coliform peritonitis of chickens Avian dis .1959 ,3: 370-373
- [2]- GROSS W.B.,CALNEKB.W.,BARNES H.J.,BEARD C.W.,REIDW.M.: Colibacillosis. Disease of poultry 9<sup>th</sup> ed .Anes: Iowa state University Press.1991, 138 – 144
- [3]- CHARLES DOZOIS M ,CHANTELOUP N. VONNE M, DHO M , BREE A, DESANTELS C. and FAIRBROTHER J.M : Bacterial colonization and in vivo expression of F1 [type1] Fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic E.coli Avian dis .1994,38:231-239
- [4]- CLOUD S.S, ROSENBERGERJ.K, FRIES P.A, WILSON R.A and ODOREM. Invitro and invivo characterization of avian E.Coli I serotype.metabolic activity and antibiotic sensitivity. Avian dis .1986,29: 1083 – 1093
- [5]- WHITEMAN C.E, BICKFORD A.A.: EDS.Avian disease manuel 3<sup>rd</sup> ed dubrique. IOWA: kandal hunt publishing, CO.1989
- [6]- SOJKA W.J., CARNAGHAN R.B.A.: Eschérichia coli infection in poultry. Res. Vet .Sci 1961, 2: 340 – 352
- [7]- CHANTELOUP N.K, DHO M., ESNAULT E.,BREE A. and LAFONT J.: Serological conservation and location of the adhesion of avian Escherichia Coli type 1 Fimbriae. Microb. Patho. 1991, 10: 271 – 280
- [8]- MOGENET L., BEZILLE P.,GUYONNET J. ET KAREMBE H: Comparaison de la flumequine [flumisol] à l'Amoxicilline [Vetromoxin: poudre orale] dans deux modes d'administration par voie orale en traitement de la colibacillose du poulet approche pharmaco dynamique et clinique. Rev. Med. Vet. 1997, 148, 10: 793 – 804
- [9]- GORDON D. and MORRISEY P.: Mollecular analysis of the virulence of E.coli isolated from domestic animals.Application For vaccine developpement. Vet.Microbio.1985, 10:241 – 257
- [10]- WRAYC.: Enteric diseases in animals caused by E.coli: their control and prevention. Bioch. Soc. Trans.1984,12: 191 – 193
- [11]- RANDAL C.J., MEAKINS P.A., HARRIS M.P and WATT D.J.:A new skin diseases in broilers. Vet. Rec. 1984: 114 – 146
- [12]- NAKAMURA K., VEDA H., TANIMURA T., and NOGUCHI K.: Effect of mixed live vaccine [Newxastle disease and infectious bronchitis] and mycoplasma gallisepticum on the chicken respiratory tract and on E. coli infection. J. Comp. Patho. 1994, vol 111: 33 – 42
- [13]- GARDIN. Y. Séminaire de Pathologie Aviaire, Laboratoire Vétérinaire UCAAB. Chateau-Thierry, France, 14-15 février 1995.
- [14]- NAKAMURA K., COOK J.K.A., FRAZIER J.A. and NARITA M. Eschérichia Coli multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and / or E.Coli. Avian. Dis, 1992,36, 881 – 890
- [15]- LECOANET.J.: Colibacilloses aviaires. Dans manuel de pathologie aviaire, imprimerie du cercle des élèves de l'école vétérinaire d'Alford .Ed par J.BRUGERE PICOUX et A. SLIM. 1992: 237 – 240
- [16]- BREE.A, DHO M and LAFONT J.P: comparative infectivity for axenic and specific pathogen-free chickens of O2 Eschérichia Coli stains with or without virulence factors. Avian dis 1989,33, 134 – 139
- [17]- GJESSING K.M., BERKHOFF H.A, CORBET W.T and STEBBINS M.E. Experimental reproduction of airsacculitis and septicemia by aerosol exposure of day-old chicks using congo red positive E. Coli. Western poultry Disease Conference, 1988, 152 - 155

**Titre :**

**Reproduction expérimentale d'une colibacillose chez le poulet Comparaison de l'efficacité d'une Fluméquine et une Amoxicilline par rapport à une Enrofloxacin de référence dans le traitement de cette pathologie.**

**Nature du diplôme :** Doctorat en sciences

**Option :** Biologie Animale

**Résumé**

Les infections à *Eischérichia Coli*, particulièrement fréquentes en aviculture, sont responsables d'importantes pertes économiques en élevage industriel de volailles.

Après un rappel des connaissances bibliographiques, nous avons essayé d'aborder les différents facteurs d'influence intervenant dans la standardisation de la maladie. De la synthèse de ces données découle dans un premier temps la mise en place d'un essai de reproduction expérimentale de la colibacillose sur des poulets âgés de trois semaines qui ont été inoculés avec une souche de colibacille O78K80 en aérosol ou par voie intramusculaire avec deux doses

différentes (aérosol) avec ou sans stress additionnel (retrait temporaire d'eau et d'aliment, ammoniac) de façon à reproduire une colibacillose aviaire proche de la maladie naturelle. Un seul lot inoculé par voie intramusculaire a présenté des troubles subcliniques avec détérioration des indices de performances (croissance et indice de consommation). Un autre essai de reproduction expérimentale de la colibacillose a été réalisé sur des poulets soumis à une infection colibacillaire particulièrement sévère afin de comparer l'efficacité du traitement par la Fluméquine par rapport à une Enrofloxacin de référence. L'efficacité du traitement et l'équivalence des deux traitements ont été démontrées pour les critères de mortalité cumulée de j1 à j10, de morbidité cumulée pendant la période de traitement, du score lésionnel des animaux morts et le poids des animaux en fin d'essai. Cette équivalence d'efficacité est suggérée par les critères de consommation d'eau, d'aliment, de croissance des animaux et d'indice de consommation. Lors du dernier essai nous avons pu provoquer une colisepticémie d'intensité correcte suite à l'inoculation intramusculaire d'une souche d' *E Coli* à la dose de  $0,5 \cdot 10^7$  CFU. Ensuite les deux anti-infectieux testés à savoir l'Amoxicilline et l'Enrofloxacin ont montrés une efficacité comparable dans le traitement de cette colibacillose.

**Mots clés** : Colibacillose, voie d'inoculation, poulet, bactériologie, Fluméquine, Enrofloxacin, Amoxicilline, pathogénie. *E. Coli*