

KLEBSIELLA PNEUMONIAE EN AVICULTURE FREQUENCE D'ISOLEMENT, SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES.

Gavaret T.¹, Briffaud M.²

¹ RESEAU CRISTAL, 53 route de Nantes 85300 CHALLANS

² LABORATOIRE RESALAB, Zac la Buzenière, 85500 LES HERBIERS

RÉSUMÉ

Klebsiella pneumoniae subsp. *Pneumoniae*(KP) est décrit comme un germe opportuniste impliqué dans des infections nosocomiales, généralement des infections urinaires, des pneumopathies et des septicémies. En pathologie vétérinaire, son implication dans la pathologie digestive du jeune lapin a été démontrée et des cas cliniques de pathologie respiratoire ou de l'appareil reproducteurs sont cités, mais peu de données existent en pathologie aviaire. Cette étude a été menée en aviculture dans les Pays de Loire en 2007 et 2008 pour préciser la fréquence et l'âge d'isolement, les différentes lésions macroscopiques associées, et les sensibilités aux antibiotiques des souches rencontrées. Elle compile les analyses pratiquées à titre d'examens complémentaires pour l'établissement d'un diagnostic de pathologie aviaire à la demande de vétérinaires avicoles exerçant dans les Pays de Loire. KP est plutôt isolées dans le jeune âge en volailles de chair, et principalement sur des dindes. Les principales lésions à l'origine de l'isolement de KP sont une infection vitelline (35%) ou des lésions respiratoires fibrineuses (14%) mais du portage asymptomatique est également observé (20%). Il semble qu'il faille prendre en compte cette bactérie lors de son isolement sur le vitellus et le foie chez les jeunes oiseaux et en temps que bactérie de surinfection de l'appareil respiratoire.

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae subsp. *Pneumoniae* (KP) is said to be an opportunist bacteria involved in nosocomial infections mainly in the urinary tract or responsible of respiratory diseases and septicaemias. In veterinary medicine, it was demonstrated to be pathogenic for the digestive tract of young rabbits and clinical cases of respiratory or genital diseases have been reported, but few data is available on avian pathology. This study was conducted in poultry in the Pays de Loire in 2007 and 2008, in order to describe how often and at what age KP is isolated, the associated necropsic signs and the resistance to antibiotics of the isolated strains. It compiles the results of bacteriological examination made for diagnostic in avian pathology for vets involved in poultry production in Pays de Loire. KP is mostly isolated in the first weeks in poultry and mainly from turkey. The main lesions at the origin of KP isolation are yolk sac infection (35%), fibrinous respiratory lesions (14%), but some asymptomatic carriers are also observed (20%). It seems that KP must be taken into consideration when isolated from liver or vitellus in young birds or from the respiratory tract.

INTRODUCTION

La bactérie classiquement appelée *Klebsiella pneumoniae* en bactériologie clinique vétérinaire est en fait la sous-espèce *Klebsiella pneumoniae* subsp. *Pneumoniae* de *Klebsiella pneumoniae*. (Ørskov 1984). En élevage hors sol, cette bactérie est principalement rencontrée en cuniculture où elle est responsable de pathologie digestive sur le jeune lapin avant le sevrage (Boucher 2002). L'implication de *Klebsiella pneumoniae* en pathologie aviaire est peu décrite (BRUGERE-PICOUX 1992). Notre expérience cunicole nous a alerté sur l'isolement de cette bactérie lors d'examen bactériologiques pratiqués sur des oiseaux d'élevage.

1. MATERIELS ET METHODES

Les observations faites sont basées sur les résultats des analyses réalisées en 2007 et durant les trois premiers trimestres 2008 par le laboratoire de biologie vétérinaire RESALAB, situé en Vendée. Ces analyses sont pratiquées à titre d'examen complémentaires pour l'établissement d'un diagnostic de pathologie aviaire à la demande de vétérinaires avicoles exerçant dans les Pays de Loire. Elles font suite à un examen nécropsique. Les résultats incrémentent une base de données ou le lien entre les lésions et les bactéries isolées peut être fait.

Les techniques d'ensemencement, d'isolement, d'identification et de réalisation des antibiogrammes sont les techniques habituelles de la bactériologie (Euzéby).

1.1. Isolements bactériens (autre que les Salmonelles)

Le choix des organes ensemencés varient en fonction des lésions observées, de l'âge des oiseaux et des suspicions cliniques :

Lors de contrôle bactériologique à 1 jour ou sur de jeunes oiseaux de quelques jours, le vitellus et le foie sont prélevés puis ensemencés sur gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (BCP) incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Lors de contrôle bactériologique sur des sujets plus âgés (absence de résidu vitellin) le sang intracardiaque et le foie, sont prélevés puis ensemencés sur gélose Columbia incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Lors de bactériologie faite sur des animaux présentant un tableau nécropsique identifié, des organes prélevés sont rajoutés, préférentiellement ceux sur lesquels des lésions ont été observées, ceci sur des animaux vivants ou morts "frais", notamment le poumon et la trachée lors d'un tableau lésionnel respiratoire fibrineux, et la moelle osseuse (sur les sujets morts en élevage). Les milieux utilisés sont résumés dans le **tableau 1**.

1.2. L'identification

L'identification de *Klebsiella pneumoniae* repose sur l'aspect des colonies sur les milieux de culture (colonies plus ou moins muqueuses), sur les caractères morphologiques de la bactérie (bacilles à Gram négatif, de 0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6,0 µm de longueur, immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies) et sur ses caractéristiques biochimiques (test uréase +, indol -), puis galerie API 20 E.

1.3. Antibiogrammes

Une suspension de la bactérie isolée équivalente au standard Mc Farland 0,5 soit $\approx 10^8$ UFC / ml est réalisée dans un bouillon Mueller Hinton ou NaCl à 0,9%. Puis les antibiogrammes sont réalisés classiquement par inondation d'une gélose Mueller Hinton. La lecture des diamètres d'inhibition est réalisée au pied à coulisse électronique. Une traduction de ces diamètres d'inhibition en concentration minimale inhibitrice (CMI) est faite par le logiciel ATIBI (Clm Informatique). Cette mesure de CMI n'est donc qu'une indication. L'étude de sensibilité aux antibiotiques portant sur 40 souches de terrain, on obtient, au sens statistique, une distribution des valeurs de CMI pour chaque antibiotique testé. La CMI 50 est estimée par la médiane de cette distribution, la CMI 90 par le centile 0,90.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

En 2007 et durant les trois premiers trimestres 2008 1517 et 1167 examens bactériologiques ont respectivement été effectués pour compléter le diagnostic en pathologie aviaire (**Tableau 2**). Dans 51 de ces cas, *Klebsiella pneumoniae* a été isolée soit 1,9%. Par comparaison ce même tableau montre les examens ayant donné lieu à isolement de *Riemerella anatipestifer* ou *Staphylococcus aureus*. Si la fréquence d'isolement de *Klebsiella pneumoniae* reste faible, elle n'est pas non plus négligeable, d'autant plus qu'elle est fréquemment isolée sur des jeunes sujets (**Tableau 3**).

Sa fréquence d'isolement diminue fortement avec l'âge (**Tableau 4**).

Elle est principalement isolée sur la dinde, en gibier à plumes (perdrix et faisans) et sur l'espèce *Gallus gallus* (poulet de chair, label et poules) (**Tableau 5**). Afin de savoir si la répartition par espèce des isolements de *Klebsiella Pneumoniae* suivait la répartition des espèces présentées au laboratoire pour examen, une comparaison a été faite durant la première semaine. Elle est présentée dans la **figure 1**. On voit nettement que la dinde est plus fréquemment à l'origine d'isolement de *Klebsiella Pneumoniae*. (Test de $\chi^2 < 0,01$).

Cette étude descriptive n'est pas suffisante pour appréhender le pouvoir pathogène de *Klebsiella Pneumoniae* en aviculture, néanmoins certains

éléments peuvent être précisés : Elle est isolée seule sur le lot de volaille étudié dans 18% des cas, et associée à des E coli non sérotypales dans 47%. (**Tableau 6**). Si elle est parfois isolée en simple portage (30% des isollements) (**Tableau 7**), on la retrouve aussi en cas d'infection vitelline (35% des isollements), de troubles digestifs avec entérite et parfois thyphlite caséuse pouvant évoquer une salmonellose (sans isolement de salmonelle dans ces 5 cas). On observe quelques cas d'isolement associés à des lésions hépatiques (foies décolorés et indurés) et lors d'infection respiratoires fibrineuses, souvent sur des sujets plus âgés (57% des cas respiratoires ont eu lieu sur des oiseaux âgés de 2 à 9 semaines)

L'étude de sensibilité à l'amoxicilline est conforme avec les données connues de la littérature qui

décrivent *Klebsiella Pneumoniae* comme étant naturellement résistante à cet antibiotique. Le **Tableau 8** montre que les souches étudiées sont majoritairement sensibles aux quinolones et à l'association triméthoprim- sulfamides. Une seule souche s'est avérée résistante au ceftiofur.

CONCLUSION

Klebsiella Pneumoniae est parfois isolée en pathologie aviaire en Pays de Loire, principalement en élevage de dindes et dans le jeune âge. Contrairement à d'autres espèces où on la rencontre plus dans l'appareil respiratoire ou reproducteur, chez les jeunes oiseaux il semble qu'il faille prendre en compte cette bactérie lors de son isolement sur le vitellus et le foie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boucher S., Nouaille L. 1999 An outbreak of 22 cases of klebsielosis due to *Klebsiella pneumoniae* in rabbits in Pays de Loire., Abstracts from 8èmes Journées de la Recherche Cunicole , Paris, June 9-10th, 1999, pp 32. World rabbit science 1999: Vol. 7 .
- Euzéby, J.P. : Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. <http://www.bacdico.net>
- Ørskov (I.) : Genus *Klebsiella*. In : N.R. KRIEG et J.G. HOLT (éds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 1984, p. 461-465.
- Brugere-picoux J, Silim A , Manuel de pathologie aviaire, 1992

Tableau 1. Principaux milieu de cultures utilisés pour les isollements bactériens autres que les salmonelles

Milieu	Objectif
Gélose columbia (sang de mouton)	Croissance des bactéries exigeantes (colibacilles, pasteurelles)
Gélose columbia ANC (sang de mouton)	Croissance des bactéries gram + (Staphylocoque, Streptocoque, Bacille du Rouget)
Gélose Tryptocaseine soja/gentamycine (sang de mouton) sous CO ₂	Croissance ornithobacterium rhinotracheale et riemerella anatipestifer
Gélose drigalski	Croissance des enterobactéries (Colibacilles, Klebsielles, Salmonelles, etc.)
Gélose drigalski - carbenicilline	Isolement des Klebsielles
Gélose BCP	Croissance des entérobactéries et gram + (staphylocoque, streptocoque..). Utilisée pour les sujets jeunes

Tableau 2. Fréquence relative des isollements de *Klebsiella pneumoniae*

	2007	2008	total
Nb total d'examen bactériologiques pratiqués	1517	1167	2684
Nb d'examens avec isolement de K. pneumoniae	31	20	51
	2,0%	1,7%	1,9%
Nb d'examens avec isolement de Staphylococcus aureus			83
			3,1%
Nb d'examens avec isolement de Riemerella anatipestifer			113
			4,2%

Tableau 3. Nombre d'examens avec isolement de *Klebsiella pneumoniae* durant la première semaine d'âge.

	nombre	%
Nb total d'examens bactériologiques durant la première semaine d'âge	248	100%
Nb d'examens avec isolement de K. pneumoniae	34	14%

Tableau 4. Âge des volailles lors d'isollements de *Klebsiella pneumoniae*

age des volailles lors d'isollements	nombre	%
SEM 1 (1 à 7 jours)	35	68,6%
SEM 2 (8 à 14 jours)	9	17,6%
>SEM 2	7	13,7%

Tableau 5. Répartition des isollements de *Klebsiella pneumoniae* par espèce.

NB De bactériologie	klebsielle +
DINDES	25
GALLUS GALLUS	8
PALMIPEDES	5
GIBIERS	9
AUTRE	4

Tableau 6. Autres souches isolées avec *Klebsiella pneumoniae*

association avec d'autres bactéries	nombre	%
seule	9	18%
E coli O1	3	6%
E coli O2	5	10%
E coli sérotypie 01 02 078K80 négative	24	47%
Salmonella spp	6	12%
ORT	1	2%
Staph aureus	3	6%

Tableau 7. Pathologie observée sur les lots dont l'examen bactériologique a mis en évidence *Klebsiella pneumoniae*

pathologie à l'origine de l'isolement	nombre	%
infection vitelline	18	35%
lésions respiratoires fibrineuses	7	14%
portage isolé lors d'une autre pathologie	10	20%
contrôle bactériologique sans clinique	5	10%
troubles digestif	8	16%
lésions hépatiques	3	6%

Tableau 8. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* testées.

	Amoxi cilline (16 - 4)	Spectinomycine (64 - 64)	Ceftiofur (8 - 2)	Gentami cine (8 - 4)	Acide oxo linique (4 - 2)	Flumé quine (8 - 4)	Enroflo xacine (2 - 0,5)	Tétra cycline (8 - 4)	Trimétho prim sulfa (8 - 2)
Nombre de souches testées	40	40	38	40	40	40	40	40	40
CMI 50	78	0	0	1	1	2	0	362	0
CMI 90	78	0	1	1	11	12	0	362	20
% de souches sensibles	0%	0%	92%	100%	88%	88%	90%	25%	73%
% de souches intermédiaires	5%	0%	5%	0%	0%	0%	3%	0%	0%
% de souches résistantes	95%	100%	3%	0%	13%	13%	8%	75%	28%

Figure 1. Répartition par espèces des isollements de *Klebsiella pneumoniae* durant la première semaine d'âge et comparaison par rapport à tous les examens bactériologiques faits au même âge.

