



République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi-Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option: Microbiologie appliquée

Thème:

**Prévalence des entérobactéries résistantes aux
céphalosporines de troisième génération ou aux
carbapénèmes dans la viande de poulet**

Présenté par :

Bouali Ilhem

Chebaiki Amani

Devant le jury :

Dr Smaali S.	MCA	Université de Tébessa	Présidente
Mme Azizi N.	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice
Dr Debabza M.	MCA	Université de Tébessa	Promotrice
Pr Mechai A.	Pr	Université de Tébessa	Co-promoteur

Date de soutenance : 07 Juin 2023

Dédicace 

Je dédie ce mémoire

A mon cher père Hocine et ma chère mère Regaia

Vous êtes ma raison de réussir et de continuer à avancer dans le chemin que vous avez tracé, vous êtes les plus précieux cadeaux de ma vie, Mille merci pour l'encouragement, la patience, la tendresse et les sacrifices consentis à mon éducation et ma formation. Que Dieu vous accorde santé, longévité et bonheur. Tout l'amour, le respect et l'appréciation pour tout ce que vous avez fait et fait encore pour moi et pour mon bonheur

A ma petite sœur Chahinez

Je te souhaite la réussite dans tes études

A mes chers frères Imed et Houdaifa

Pour leur appui et leur encouragement, J'espère que la vie vous réserve le meilleur.

A mon amie de tous les temps et mon binôme

Amani Chebaiki

Pour le soutien et la patience afin de terminer ce travail. Merci pour tous les moments qui ont fait ces années de belles années, je vous souhaite toute la joie du monde.

A mes chères collègues et amis de section microbiologie 2019/2023

A tous mes enseignants que ce soit de primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Ilham

Dédicace 

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour

À mon père

Pour son amour, ses sacrifices et son soutien matériel et moral.

À ma mère

Pour ses encouragements, son affection et la confiance que tu m'as donnée.

À mes chers frères et sœurs

Houcine ,Ritedj, Islam, Amina, Maya et le dernier grain de Sucre Iyad.

À ma binôme ma Loulou

*Pour sa fidèle amitié et pour m'avoir accompagné à toutes les étapes de
mes études.*

À tous mes amis de section microbiologie 2019/2023

A tous ceux qui m'aiment et occupent une place dans mon cœur.

Nos succès d'aujourd'hui ne sont motivés que par nos efforts d'hier.

Amani

Remerciements

Alhamdoli Allah, Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant de nous accorder la foi, le courage, la santé et les moyens de conception de ce modeste travail.

*Au terme de ce travail, nous tenons à remercier tout particulièrement notre encadreur **Dr. Debabza Manel**, Docteur à L'université Larbi Tébeesi Tébessa d'avoir dirigé ce travail et pour l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour ses précieux conseils, ses orientations et sa confiance. Vos qualités intellectuelles et vos connaissances larges font de vous un modèle souhaité par tous les étudiants. Veuillez accepter l'expression de notre haute considération.*

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury d'avoir accepté de juger ce mémoire

***Dr. Smaali Saoussen**, et **Dr. Azizi Nassima** et porter un jugement critique et judicieux sur ce dernier.*

*Techniciennes de laboratoire qui nous ont prêté main forte au cours de la réalisation notre travail, en particulier **Mme Imene** pour sa gentillesse.*

Enseignants de la spécialité microbiologie appliquée de l'Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi-Tébessa

*La doctorante **Melle Boutaleb Naima** et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Ilham et Amani

Résumé

Aujourd'hui, on assiste à une dissémination des souches d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (ERC3G) et d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC) dans les produits alimentaires d'origine animale. Dans ce contexte, les objectifs de ce travail sont l'isolement de ces bactéries à partir de la viande de poulet commercialisée à Tébessa et l'estimation de leur prévalence dans cette denrée.

Ce travail a porté sur 36 échantillons de blanc de poulet, les ERC3G et les ERC ont été isolées sur milieu Mac-Conkey additionné de céfotaxime (CTX) et d'imipénème (IMP) respectivement. La prévalence des ERC3G était de 61% et celle des ERC était de 39%. Cinquante-deux isolats ont été retenus, dont 31 isolés sur Mac Conkey + CTX et 21 isolés sur Mac Conkey + IMP. Selon l'aspect macroscopique, les isolats ont été attribués aux entérobactéries : *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus mirabilis* (44 %), *Escherichia coli* (25%), *Serratia*, *Citrobacter* (25%) et *Klebsiella pneumoniae* (6%).

Notre étude a montré une forte prévalence de contamination par les ERC3G et les ERC dans la viande de poulet. Par conséquent, ces bactéries pourraient être transférées aux humains via la chaîne alimentaire, causant de graves problèmes de santé publique et de sécurité alimentaire.

Mots clés: céphalosporines de troisième génération, carbapénèmes, résistance aux antibiotiques, entérobactéries, viande de poulet.

Abstract

Today, we are witnessing the dissemination of third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* (3GCRE) strains and carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) in food products of animal origin. In this context, the objectives of this study are the isolation of these bacteria from chicken meat marketed in Tébessa and the estimation of their prevalence in this commodity.

This study focused on 36 samples of chicken breast, 3GCRE and CRE were isolated on Mac-Conkey medium supplemented with cefotaxime (CTX) and imipenem (IMP) respectively. The prevalence of 3GCRE was 61%, and that of CRE was 39%. Fifty-two isolates were selected, including 31 isolated on Mac-Conkey + CTX and 21 isolated on Mac-Conkey + IMP. According to the macroscopic appearance, the isolates were assigned to enterobacteria: *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus mirabilis* (44%), *Escherichia coli* (25%), *Serratia*, *Citrobacter* (25%), and *Klebsiella pneumoniae* (6%).

Our study revealed a high prevalence of contamination by 3GCRE and CRE in chicken meat. Therefore, these bacteria could be transferred to humans through the food chain, leading to serious public health and food safety concerns.

Keywords: third-generation cephalosporins, carbapenems, antibiotic resistance, enterobacteria, chicken meat.

ملخص

نشهد اليوم انتشار سلالات من البكتيريا المعوية المقاومة للجبل الثالث من السيفالوسبورينات (ERC3G) والجراثيم المعوية المقاومة للكاربابينيمات (ERC) في المنتجات الغذائية ذات الأصل الحيواني. في هذا السياق ، تتمثل أهداف هذا العمل في عزل هذه البكتيريا من لحوم الدجاج التي يتم تسويقها في تبسة وتقدير مدى انتشارها في هذا المنتج .

تضمن هذا العمل 36 عينة من صدور الدجاج ، تم عزل ERC3G و ERC على وسط Mac-Conkey مع سيفوتاكسيم (CTX) و إيميبينيم (IMP) على التوالي. كان انتشار ERC3G 61 % وانتشار ERC 39%. تم الاحتفاظ باثنين وخمسين عذلة ، منها 31 معزولة من Mac Conkey + CTX و 21 معزولة من Mac Conkey + IMP ، بناء على المظهر العياني ، نسبت عزلات *Enterobacteriaceae* الى ; *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus mirabilis* (44%) و *Serratia* و *Citrobacter* (25%) , *Escherichia Coli* (25%) و *Klebsiella pneumoniae* (6 %).

أظهرت دراستنا نسبة تلوث كبيرة في لحوم الدجاج ب ERC3G و ERC ، ونتيجة لذلك ، يمكن أن تنتقل هذه البكتيريا إلى البشر عبر السلسلة الغذائية ، مما يسبب مشاكل خطيرة في الصحة العامة وسلامة الأغذية .

الكلمات المفتاحية: الجيل الثالث من السيفالوسبورينات ، الكاربابينيمات ، مقاومة المضادات الحيوية ، البكتيريا المعوية ، لحم الدجاج.

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	Composition nutritionnelle de la viande de poulet pour 100g.	3
02	Description des différents aspects cultureux.	21
03	Résultats du test oxydase.	25

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	Structure de base des céphalosporines.	6
02	Structure chimique de base des carbapénèmes.	8
03	Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame.	9
04	Echantillons de blanc de poulet.	12
05	Etape du pré- enrichissement.	13
06	Préparation de la gélose Mac Conkey.	15
07	Préparation des solutions d'antibiotiques.	16
08	Addition des antibiotiques à la gélose.	16
09	Isolement sélectif.	17
10	Purification sur gélose Mac Conkey.	18
11	Test oxydase.	19
12	Conservation des isolats.	20
13	Aspect cultural A sur gélose Mac Conkey.	22
14	Aspect cultural B sur gélose Mac Conkey.	22
15	Aspect cultural C sur gélose Mac Conkey.	23
16	Aspect cultural D sur gélose Mac Conkey.	24
17	Aspect cultural E sur gélose Mac Conkey.	24
18	Aspects microscopiques observés après coloration de Gram.	25
19	Test oxydase.	26
20	Répartition des isolats selon l'aspect macroscopique.	27
21	Prévalence des ERC3G dans la viande de poulet.	27
22	Prévalence des ERC dans la viande de poulet.	29

Liste des annexes

Annexe N°	Titre
i	Dates et lieux de prélèvement des échantillons.
ii	Composition et préparation des milieux de culture utilisés pour 1 litre de milieu.
iii	Appareillage et verreries utilisés.
vi	Résultats de l'isolement sélectif des ERC3G et ERC.

Liste des abréviations

%	Pourcentage.
°C	Degré Celsius.
ATB	Antibiotique.
AmpC	Béta lactamases de classe C.
Api 20E	Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries).
B	Blanc de poulet.
BGN	Bacille à Gram négatif.
β- lactamine	Béta- lactamine.
BLSE	Bactéries productrices de béta-lactamases à spectre élargi.
C	Carbone.
C1	Colonie type 1.
Carba	Carbapénème.
CTX	Céfotaxime.
C3G	Céphalosporines de troisième génération.
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> .
ERC	Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes.
ERC3G	Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération.
IMP	Imipénème.
G	Gramme.
GN	Gélose nutritive.
Kj	kilo joule.
Kg	kilo gramme.
L	Litre.
MAC	Mac conkey.
Mg	Milli gramme.
ml	Microlitre.
PLPs	Protéines liant les pénicillines.

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Liste des abréviations	
Table des matières	
Introduction.....	1

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur la viande de poulet.....	3
I.1.1. Définition de la viande de volaille.....	3
I.1.2. Qualités de la viande de poulet.....	3
I.1.2.1. Qualité nutritionnelle.....	3
I.1.2.2. Qualité hygiénique.....	3
I.2. Usages et intérêts des antibiotiques en élevage avicole.....	5
I.3. Céphalosporines de troisième génération et carbapénèmes.....	6
I.3.1. Céphalosporines de troisième génération.....	6
I.3.2. Carbapénèmes.....	7
I.4. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux β -lactamines.....	8
I.4.1. Production d'enzymes inactivant les antibiotiques.....	9
I.4.2. Diminution de la perméabilité.....	9
I.4.3. Modification de la cible des antibiotiques.....	9
I.4.4. Hyperproduction de système d'efflux.....	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Objectifs.....	11
II.2. Cadre de l'étude.....	11
II.3. Échantillonnage.....	11
II.4. Isolement des ERC3G et des ERC.....	12
II.4.1. Principe de la méthode.....	12
II.4.2. Protocole.....	13

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Examens préliminaires.....	21
III.1.1. Examen macroscopique.....	21
III.1.2. Examen microscopique.....	24
III.1.3. Test oxydase.....	25
III.2. Répartition des isolats selon l'aspect macroscopique.....	26
III.3. Prévalence des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération.....	27
III.4. Prévalence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes.....	29
III.5. Prévalence des échantillons positifs aux ERC3G et/ou aux ERC dans la viande de Poulet.....	29
Conclusion et perspectives.....	31

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

Introduction

Durant les trois dernières décennies, la filière avicole algérienne a connu l'essor le plus spectaculaire parmi les productions animales en particulier la viande de poulet, qui lui confère désormais une place de choix dans l'économie nationale en général (**Kaci et Cheriet, 2013**).

L'utilisation des antibiotiques en aviculture se révèle aujourd'hui indispensable, non seulement pour des besoins préventifs et curatifs, mais aussi pour des besoins économiques, afin d'accroître la productivité des poulets de chair. Cependant, le non-respect des normes de construction des bâtiments d'élevage et des mesures sanitaires et hygiéniques, et surtout l'usage excessif et non contrôlé de ces antibiotiques dans l'élevage, a contribué au développement de l'antibiorésistance, devenue un problème de santé publique (**Amairi, 2021; Djemli et Fadel, 2021**).

La résistance aux antibiotiques est étroitement liée à l'introduction de céphalosporines à large spectre et d'antibiotiques carbapénèmes, dont l'utilisation a considérablement augmenté l'efficacité de l'antibiothérapie en médecine humaine et vétérinaire (**Rybak et al., 2022**). De plus, il a été démontré que les animaux sont les principaux réservoirs de bactéries résistantes aux antibiotiques, qui peuvent se propager à l'homme par contact direct ou via la chaîne alimentaire (**Bedekelabou et al., 2020**). C'est pourquoi, les carbapénèmes et les céphalosporines de troisième génération sont à réserver autant que possible à la médecine humaine pour éviter le développement des résistances (**Ben Youssef et Hajji, 2016**).

Le problème d'antibiorésistance dans les produits alimentaires d'origine animale notamment la viande de poulet, devient de plus en plus sérieux, ce qui a suscité notre intérêt à faire une investigation dans cette perspective à travers cette étude, dont les objectifs sont :

- 1) isolement d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (ERC3G) et d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC) à partir de la viande de poulet commercialisée dans la région de Tébessa;
- 2) estimation de la prévalence de contamination de la viande de poulet par ces entérobactéries résistantes.

Ce manuscrit est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre sera une synthèse bibliographique avec des généralités sur la viande de poulet, puis les céphalosporines de troisième génération et les carbapénèmes ainsi que les mécanismes de résistance des

entérobactéries aux bêta-lactamines. Le deuxième chapitre sera consacré à la présentation du matériel et de la méthodologie utilisés dans la réalisation du travail. Le dernier chapitre présentera les résultats obtenus ainsi que leur discussion. Enfin, nous terminerons par une conclusion générale et quelques perspectives.



Chapitre I

Synthèse

bibliographique

I.1. Généralités sur la viande de poulet

I.1.1. Définition de la viande de volaille

Le codex Alimentarius définit la chair de volaille comme la partie comestible de tout oiseau domestique, y compris les poulets, les dindes, les canards, les oies, les pintades et les pigeons, tués en abattoir (Codex Alimentarius, 2015).

I.1.2. Qualités de la viande de poulet

I.1.2.1. Qualité nutritionnelle

La viande de poulet est une excellente source de protéines (**Tableau 1**) et des vitamines du groupe B comme la vitamine B3 qui permet de conserver une peau saine, et la vitamine B6 qui entre dans le processus de régulation et de construction des tissus. Elle est très riche en minéraux particulièrement le zinc et le sélénium. Elle représente une source alimentaire de fer héminique et d'azote. Par ailleurs, elle est peu calorique et relativement pauvre en graisses, c'est la raison pour laquelle la viande de poulet est considérée comme la viande de régime (**Djemli et Fadel, 2021**).

Tableau 1 : Composition nutritionnelle de la viande de poulet pour 100 g
(Bellahoues et Gouizi, 2017).

Produit	Eau	Protides	Graisses	Cendres	Calories (KJ)
Poulet	75%	22.8 g	0.9 g	1.2 g	439

I.1.2.2. Qualité hygiénique

La viande de poulet doit être exempte des germes pathogènes et dangereux pour la santé de l'être humain, pour être propre à la consommation; de même, elle ne doit contenir aucun résidu médicamenteux, source éventuelle d'antibiorésistance et d'allergie (**Cardinale et al., 2000**).

Dans la filière avicole, la viande peut être contaminée par des microorganismes à différentes étapes de la chaîne de transformation. Deux types de dangers microbiologiques peuvent être distingués de leurs gravités et de leurs origines (**Boudouika et Ghiat, 2017**).

a) Bactéries d'altération**➤ Flore d'origine endogène**

Les appareils digestifs et respiratoires et la peau des animaux sont un réservoir des microorganismes qui contaminent la carcasse.

• Flore du tube digestif

La plupart des germes de contamination endogène sont d'origine intestinale. Ce sont des bactéries anaérobies (*Clostridium*, *Bacteriodes*), aéro-anaérobies (entérobactéries: *E. coli*, *Salmonella*..), microaérophiles (entérocoques et *Campylobacter*), des moisissures (*Aspergillus sp*, *Penicillium sp*) ou des levures (*Saccharomyces*, *Candida*). Ils contaminent le muscle au cours de l'éviscération et de découpe de la carcasse (**Boudouika et Ghiat, 2017**).

• Flore de surface

La peau des volailles est porteuse de nombreux germes tels que les coliformes, les staphylocoques, les streptocoques et *Pseudomonas* qui contaminent la carcasse par contact direct ou indirect par un moyen de travail (comme le couteau) (**Boudouika et Ghiat, 2017**).

• Flore des voies respiratoires

Parmi les sources de contamination superficielle, le système respiratoire (cavité nasopharyngée) renferme essentiellement des staphylocoques (**Boudouika et Ghiat, 2017**).

➤ Flore d'origine exogène

La contamination exogène peut être d'origine humaine à partir des régions de la bouche, de la peau, du nez et de la gorge qui contiennent des germes tels que les staphylocoques, ou bien d'origine environnementale par la poussière, l'eau, etc. Aussi, ce type de contamination peut être dû à l'utilisation d'équipements ou de matériels mal nettoyés (couteaux, bacs...) (**Bellahoues et Gouizi, 2017**).

b) Bactéries pathogènes

La viande de poulet peut être contaminée par des bactéries pathogènes comme *Salmonella ssp*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* et *E. coli O157 : H7* (**Mahboub et Mansouri, 2021**).

I.2. Usages et intérêts des antibiotiques en élevage avicole

Selon le **Codex Alimentarius (2003)**, les systèmes modernes de production alimentaire devraient être conçus et gérés de manière à garantir que l'exposition des volailles destinées à l'alimentation, à des médicaments vétérinaires ne présente aucun risque pour la santé humaine.

Donc, seules les volailles en bonne santé peuvent être abattues pour entrer dans la chaîne alimentaire pour la consommation. Pour cela, certains médicaments vétérinaires peuvent être donnés si nécessaire aux volailles d'élevage. C'est en particulier le cas des antibiotiques qui sont utilisés à des concentrations thérapeutiques et sub-thérapeutiques chez les volailles destinées à l'alimentation humaine (**Bellahoues et Gouizi, 2017**). Ils sont utilisés pour les raisons suivantes :

- **utilisation à titre thérapeutique curatif** : pour obtenir la guérison des animaux cliniquement malades, éviter la mortalité et pour restaurer la production (viande, œufs, abats, ...etc.) (**Djemli et Fadel, 2021**);
- **utilisation en métaphylaxie**: la métaphylaxie s'applique à partir du moment où 10 à 15 % des animaux du lot sont atteints d'une infection collective et très contagieuse qui a été déclarée précédemment dans un élevage avec des grands effectifs (**Bellahoues et Gouizi, 2017**);
- **utilisation en antibio-prévention**: par l'administration des antibiotiques à des périodes critiques de la vie, ce qui permet d'éviter totalement l'expression clinique (**Djemli et Fadel, 2021**);
- **utilisation en tant qu'additifs dans l'alimentation animale**: l'antibiotique est administré à faibles doses pour augmenter la vitesse de croissance des animaux, par modification de la composition de la microflore intestinale, qui provoque une meilleure assimilation des aliments par les animaux (**Bellahoues et Gouizi, 2017**).

Malgré tous les bienfaits apportés par les antibiotiques dans le but de la production animale en bonne santé et la lutte contre les maladies infectieuses bactériennes en élevage, l'usage des antibiotiques présente un grand danger, car ils exercent une pression sélective dans l'environnement qui touche à la fois la santé animale et la santé humaine c'est l'antibiorésistance, certaines bactéries deviennent insensibles aux traitements antibiotiques (**Djemli et Fadel, 2021**).

En aviculture, par exemple, les carbapénèmes et les céphalosporines de 3ème génération n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché chez les animaux de rente pour éviter le phénomène

d'antibiorésistance et ils sont réservés autant que possible à la médecine humaine (**Ben Youssef et Hajji, 2016**).

I.3. Céphalosporines de troisième génération et carbapénèmes

Ces antibiotiques appartiennent aux β -lactamines, la famille la plus utilisée contre les entérobactéries en médecine générale en raison de leur faible toxicité, leur activité bactéricide sur les bactéries en croissance et leur spectre antibactérien plus ou moins large. Les β -lactamines agissent sur la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la biosynthèse de réseau de peptidoglycane au cours de la croissance cellulaire, ce qui provoque par la suite une lyse bactérienne (**Said, 2015; Sonnet, 2020**). La famille des β -lactamines est classée en plusieurs groupes qui diffèrent par leur structure de base : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes, les monobactames et l'acide clavulanique (**Sonnet, 2020**). Dans notre travail, on s'intéresse aux céphalosporines de troisième génération et aux carbapénèmes.

I.3.1. Céphalosporines de troisième génération

Les céphalosporines sont des β -lactamines produites par le genre *Cephalosporium* (**Gouasmia et Hechachenia, 2015**). Elles sont caractérisées sur le plan chimique par la présence d'un noyau céphème (**Figure 1**) composé d'un cycle dihydrothiazine attaché au noyau β -lactame (**Sonnet, 2020**).

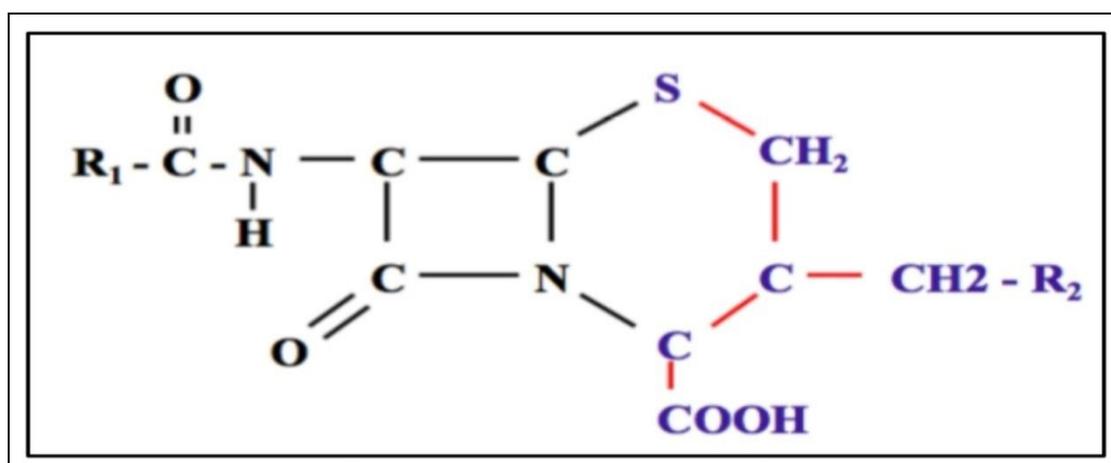


Figure 1 : Structure de base des céphalosporines (**Sonnet, 2020**).

Il existe trois générations de céphalosporines classées selon leur chronologie d'apparition sur le marché et leur spectre d'activité :

- **céphalosporines de première génération** : comme la céfalotine qui agit sur des bactéries à Gram positif (*staphylocoques* et *streptocoques*) et des bactéries à Gram négatif, mais inactive sur *Pseudomonas aeruginosa*;
- **céphalosporines de deuxième génération** : qui sont plus efficaces contre une plus grande variété de bactéries à Gram négatif (entérobactéries surtout productrices de β -lactamases) et inactives sur *Pseudomonas aeruginosa*;
- **céphalosporines de troisième génération** : comme le céfotaxime et la ceftazidime, elles sont très efficaces sur les bactéries à Gram négatif multi résistantes et les *Pseudomonas*, mais inactives sur les *Listeria* et les entérocoques;
- **céphalosporines de quatrième génération** : comme le céfépime, elles agissent plus largement contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif à la fois, notamment sur les staphylocoques et les streptocoques (**Ben Youssef et Hajji, 2016**).

Les céphalosporines sont considérées comme des antibiotiques de deuxième intention avec peu d'effets indésirables. Donc, les céphalosporines de troisième et quatrième génération sont à réserver autant que possible à la médecine humaine pour éviter le développement des résistances (**Ben Youssef et Hajji, 2016**).

I.3.2. Carbapénèmes

Les carbapénèmes se distinguent des pénicillines (pénams) par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1, et le cycle comporte une liaison C2-C3 insaturée (**Figure 2**). Les carbapénèmes sont stables aux β -lactamases (enzymes hydrolysant les β -lactamines produites par des bactéries résistantes à ces antibiotiques) en raison de la trans-orientation des atomes d'hydrogène en C5 et C6 et à la présence d'une chaîne hydroxyethyl en C6 au lieu de la chaîne acylamino des pénicillines et des céphalosporines (**Wolff et Joly-Guillou, 2008**).

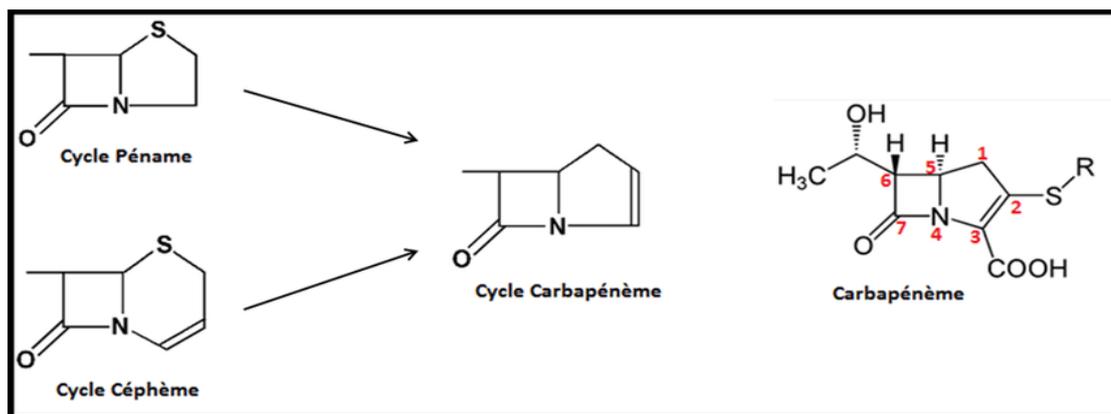


Figure 2: Structure chimique de base des carbapénèmes (Wolff et Joly-Guillou, 2008).

Les carbapénèmes sont des β -lactamines possédant un très large spectre antibactérien, et une grande stabilité envers la quasi-totalité des β -lactamases. Pour cette raison, ils sont les plus efficaces actuellement dans le traitement des infections nosocomiales sévères. Leur spectre in vitro couvre un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif ainsi que les anaérobies (Wolff et Joly-Guillou, 2009).

Les molécules commercialisées de carbapénèmes sont : l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème, qui sont utilisés pour traiter des infections causées par des bactéries résistantes aux autres β -lactamines comme *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Sonnet, 2020). Parmi les carbapénèmes, l'imipénème est l'antibiotique le plus connu. Sa disponibilité est conditionnée par l'association avec la cilastatine (Vidal ^R, 2014). L'imipénème est résistant à la plupart des β -lactamases, y compris les β -lactamases à spectre élargi (BLSE) (Cuzon, Naas *et al.*, 2010).

I.4. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux β -lactamines

Généralement, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines que ce soit naturelle ou acquise. L'évolution constante de ces mécanismes et de transfert des gènes de résistance ont conduit à l'apparition des souches d'entérobactéries résistantes à presque tous les antibiotiques disponibles sur le marché, qu'il n'y a pas d'autres possibilités pour faire le traitement. La résistance aux β -lactamines notamment aux céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} génération et aux carbapénèmes devient plus fréquente, ce qui représente un grand danger pour la santé humaine en raison de l'inefficacité du traitement d'antibiotique (Sonnet, 2020).

I.4.1. Production d'enzymes inactivant les antibiotiques

Le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries est la production de β -lactamases qui sont des enzymes hydrolysant les β -lactamines en ouvrant le cycle β -lactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique (**Figure 3**). Parmi les β -lactamases, on cite par exemple : les céphalosporinases chromosomiques qu'on les trouve chez les *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* et les carbapénémases qui sont des β -lactamases plasmidiques qu'on peut les rencontrer notamment chez *Pseudomonas aeruginosa* (**Lagha, 2015**).

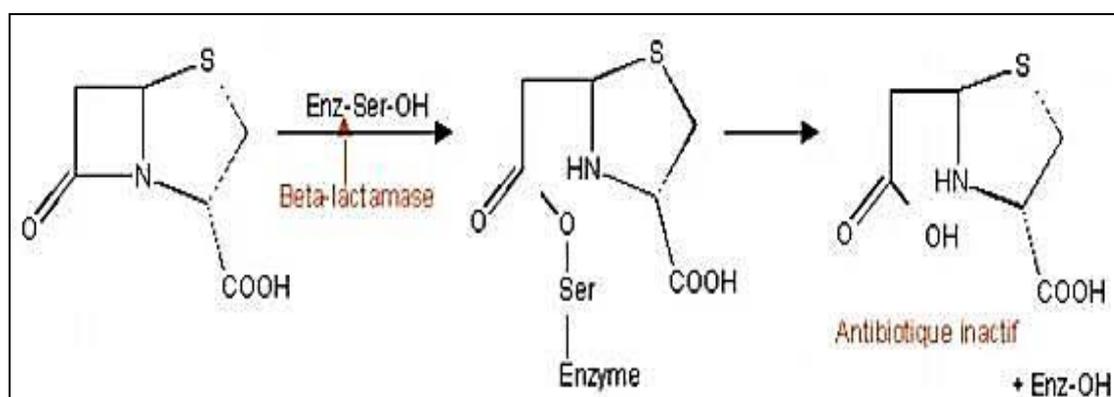


Figure 3 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame (**Lagha, 2015**).

I.4.2. Diminution de la perméabilité

La membrane externe des bactéries à Gram négatif contient des canaux protéiques hydrophiles appelées les porines, c'est le point d'entrée des β -lactamines. Donc, L'altération des porines par mutation est à l'origine des résistances acquises aux carbapénèmes et céphalosporines de troisième génération chez les entérobactéries, soit par une modification structural d'une porine, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative de l'expression des porines, qui est la situation la plus fréquente (**Amra et Chaabane, 2018; Mechri, 2020**).

I.4.3. Modification de la cible des antibiotiques

Comme la modification de la cible des β -lactamines, les PLPs (protéines liant les pénicillines), qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane, donc les β -lactamines ne se fixent pas pour jouer leur rôle (**Benzair et Korichi, 2018**). Cette résistance peut être due à des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les PLPs ou à l'acquisition

de gènes étrangers codant pour des nouvelles PLPs ayant une affinité différente aux β -lactamines (Mechri, 2020). Chez les entérobactéries, ce mécanisme très rare. C'est le cas de la résistance des souches de *Proteus mirabilis* à l'imipénème suite à une altération de certaines PLPs (Amra et Chaabane, 2018).

I.4.4. Hyperproduction de système d'efflux

Dans la membrane externe des entérobactéries, on trouve des pompes de nature protéique capables d'éjecter l'antibiotique hors de la bactéries grâce à des mutations qui conduit une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique donc confère une multi résistance aux antibiotiques (Lagha, 2015).



Chapitre I I

matériel et

méthodes

II.1. Objectifs

L'antibiorésistance des entérobactéries est un problème de santé publique qui connaît actuellement un développement très rapide et se propage à plusieurs niveaux : dans les hôpitaux, en communauté, dans l'environnement et même dans les produits alimentaires, notamment d'origine animale comme la viande. Dans ce contexte, les objectifs de cette étude ont été :

- l'isolement des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération et aux carbapénèmes à partir de la viande de poulet commercialisée dans la région de Tébessa;
- l'estimation de la prévalence de ces entérobactéries résistantes dans la viande de poulet.

II.2. Cadre de l'étude

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie, département de biologie appliquée, université Echahid Cheikh Larbi Tebessi-Tébessa, durant une période de deux mois allant du 28 Février jusqu'au 03 Mai 2023.

II.3. Échantillonnage

Ce travail a porté sur l'analyse de 36 échantillons de blanc de poulet, qui ont été prélevés de façon aléatoire à partir de différents points de vente dans trois communes : Cheria, Hammamet et Tébessa (**Annexe i**).

On a prélevé des échantillons de 100 g de blanc de poulet dans des conditions aseptiques. Chaque échantillon a été conditionné dans un sac plastique stérile unitaire, soigneusement scellé et étiqueté. On a noté sur le sac : le numéro de l'échantillon, la date et le lieu de prélèvement (**Figure 4**). Les échantillons collectés ont été transportés rapidement dans une glacière entre + 2 °C et + 8 °C jusqu'à l'analyse bactériologique qui doit être réalisée dans les 48 heures après l'échantillonnage.



Figure 4 : Echantillons de blanc de poulet (photos personnelles)

II.4. Isolement des ERC3G et des ERC

II.4.1. Principe de la méthode

La méthode utilisée dans notre travail est la méthode de référence ANSES/LMV/18/01-Version 01 Février 2018 de l'agence nationale de sécurité alimentaire alimentation, environnement, travail. Cette méthode est applicable pour la recherche sélective des *E. coli* producteurs de BLSE, AmpC (céphalosporinases) et de carbapénèmases dans les viandes fraîches prélevées à la distribution.

Cette méthode a pour principe l'utilisation de milieux additionnés d'antibiotiques permettant l'isolement sélectif des ERC3G ou aux carbapénèmes. Elle comporte cinq étapes :

- pré-enrichissement non sélectif;
- isolement sélectif;
- purification;
- identification;
- conservation.

Dans notre travail, l'étape d'identification n'a pas été effectuée en raison du manque des galeries API20E. Par conséquent, l'orientation vers les entérobactéries est basée sur les caractères cultureux et le test oxydase.

Remarque : le protocole de la méthode utilisée a été adapté en fonction des moyens disponibles.

II.4.2. Protocole

a) Pré-enrichissement

- ✓ Peser aseptiquement 10g de viande de poulet à partir des prises d'essai homogènes réalisées en surface et au cœur de la viande à analyser, en utilisant un couteau stérile pour chaque échantillon.
- ✓ Transférer cette quantité dans un contenant stérile (un sac ziploc ou un bocal en verre stérile et étiqueté), puis ajouter 90 ml d'eau peptonée tamponnée ou de tryptone sel (**Annexe ii**).
- ✓ Incuber à 37 °C pendant 18 à 22 heures.



Figure 5: Etape du pré- enrichissement (photos personnelles)

b) Préparation du milieu de culture additionné des antibiotiques

Le milieu utilisé est la gélose Mac-Conkey (**Annexe ii**) qui est un milieu d'isolement ordinaire des bacilles à Gram négatif non exigeants, dans les matières fécales, les urines, les eaux usées et les aliments. Il permet d'apprécier l'assimilation du lactose par les bactéries grâce à la présence de lactose et de rouge neutre. Après incubation, la lecture se fait comme suit :

- **colonies roses ou rouges** : signifient une acidification du milieu par fermentation du lactose (lactose +);
- **colonies incolores ou jaunes** : signifient qu'il n'y a pas d'acidification du milieu (lactose -) (**Senouci et al., 2020**).

La gélose Mac-Conkey est préparée, puis additionnée de l'antibiotique juste avant son utilisation. Elle est additionnée du céfotaxime (CTX) à une concentration finale de 1mg/L pour l'isolement des ERC3G et de l'imipénème (IMP) à une concentration finale de 2mg/L pour l'isolement des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC).

➤ Préparation de la gélose Mac Conkey

- ✓ Suspendre 25 grammes du milieu déshydraté dans 500 ml d'eau distillée dans un bécher.
- ✓ Bien mélanger et dissoudre en chauffant avec agitation fréquente.
- ✓ Faire bouillir jusqu'à dissolution complète.
- ✓ Répartir le milieu dans des flacons à raison de 100ml par flacon.
- ✓ Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- ✓ Refroidir à 47°C.

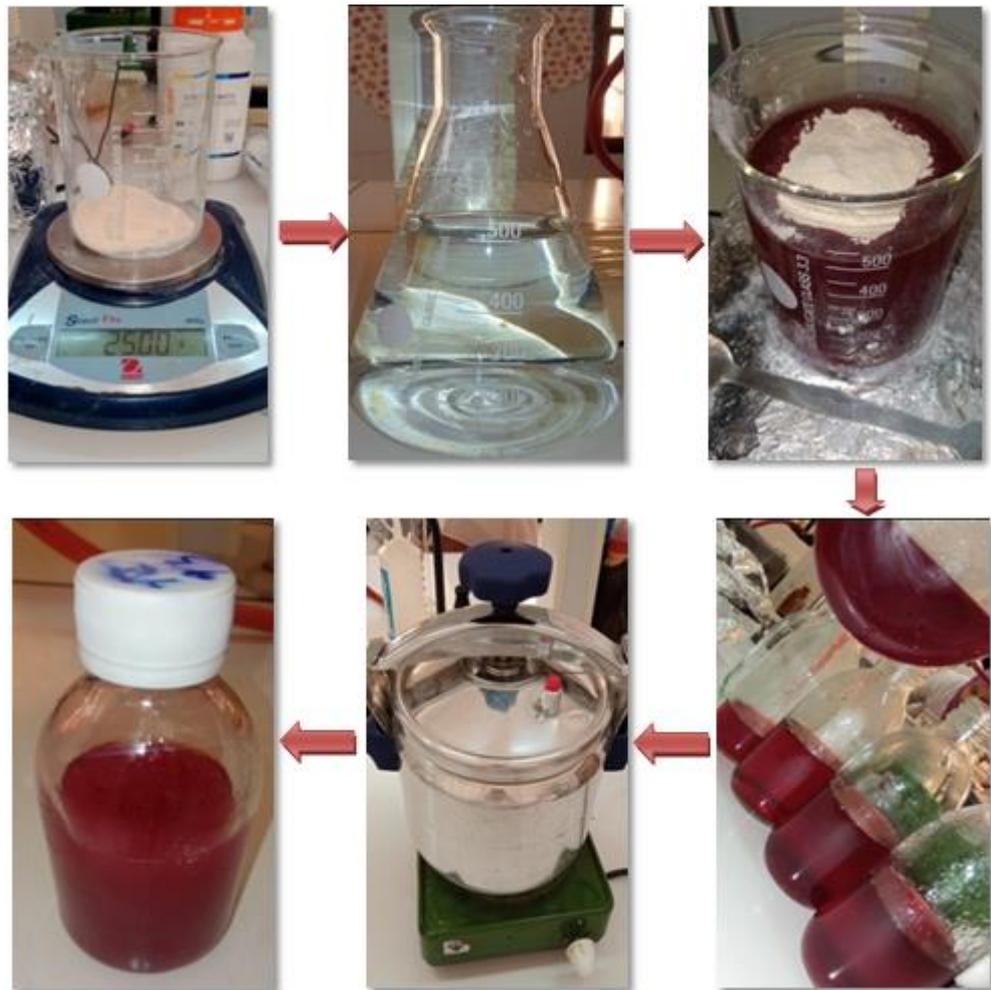


Figure 6 :Préparation de la gélose Mac Conkey (photos personnelles)

➤ **Préparation des solutions d'antibiotiques (Figure 7)**

- ✓ Peser dans un petit morceau d'aluminium 1 mg de l'antibiotique céfotaxime en poudre (Ayataxim ®) et 1 mg de l'antibiotique imipénème (Samipenem ®) dans un autre morceau d'aluminium.
- ✓ Transférer la quantité pesée dans un tube stérile étiqueté IMP ou CTX, en ajoutant 1 ml d'eau distillée stérile dans chacun des deux tubes.
- ✓ Bien mélanger et mettre au réfrigérateur.



Figure 7 :Préparation des solutions d'antibiotiques (photos personnelles)

➤ **Addition des antibiotiques à la gélose (Figure 8)**

- ✓ Ajouter 100 μ l de la solution CTX préalablement préparée à 100 ml de gélose Mac Conkey pour avoir le milieu Mac Conkey + CTX à 1mg/L.
- ✓ Ajouter 200 μ l de la solution IMP préalablement préparée à 100 ml de gélose Mac Conkey pour avoir le milieu Mac Conkey + IMP à 2mg/L.
- ✓ Mélanger lentement pour éviter la formation de mousse.
- ✓ Couler les milieux dans des boîtes de Pétri sur lesquelles est noté le nom de l'antibiotique correspondant (CTX ou IMP) et laisser se solidifier.



Figure 8 : Addition des antibiotiques à la gélose (photos personnelles)

c) Isolement sélectif

➤ Isolement des ERC3G

Mélanger doucement la culture pré-enrichie la veille. Prélever une öse de 10 µl et étaler sur un seul cadran d'une boîte de Mac Conkey + CTX (1 mg/L). A partir de ce premier étalement, procéder à deux étalements supplémentaires en reprenant la même öse afin d'obtenir des colonies isolées (**Figure 9**). Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

➤ Isolement des ERC

Procéder de la même manière pour l'isolement des ERC sur Mac Conkey + IMP à 2mg/L. Chaque échantillon est ensemencé sur les deux milieux sélectifs à raison d'une boîte par échantillon.

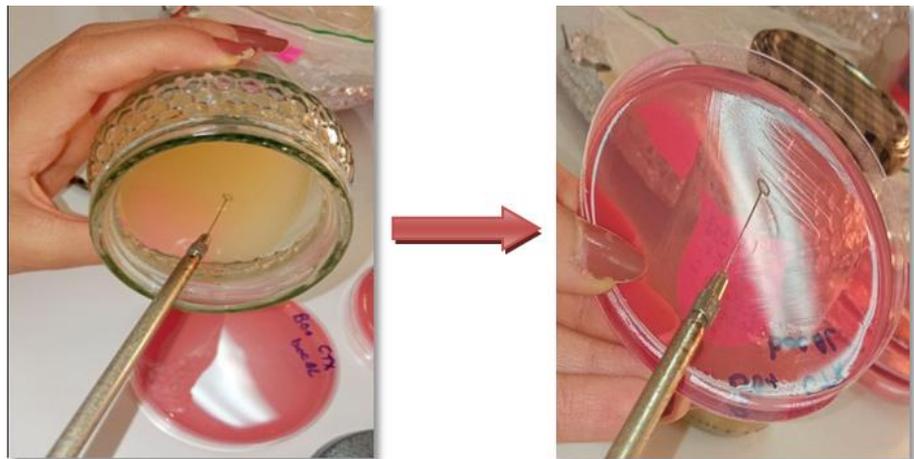


Figure 9 : Isolement sélectif (photos personnelles)

d) Coloration de Gram

Après incubation, les colonies présentant un aspect caractéristique des entérobactéries ont été soumises à l'examen microscopique par coloration de Gram, pour vérifier s'il s'agit de bacilles à Gram négatif.

e) Purification

- ✓ Une colonie pour chaque morphologie et couleur observées sur milieux Mac Conkey + CTX/ IMP est choisie pour une éventuelle purification.

- ✓ Prélever les colonies caractéristiques d'entérobactéries, présentant des bacilles à Gram négatif, et réisoler chacune sur une nouvelle boîte de Mac Conkey de façon à obtenir des colonies bien distinctes (**Figure 10**).
- ✓ Incuber 24 heures à 37 °C.

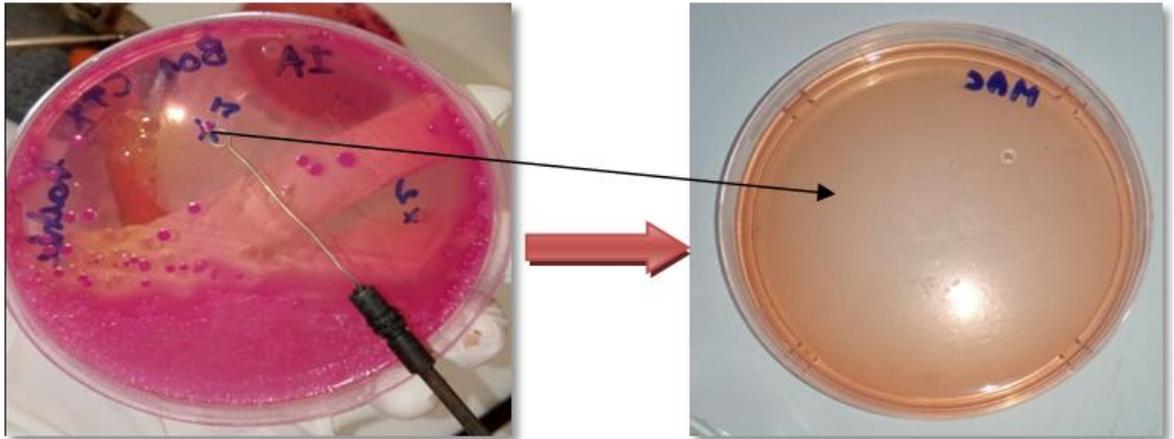


Figure 10: Purification sur gélose Mac Conkey (photos personnelles)

f) Test oxydase

➤ Principe

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la N-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé violet grâce à une oxydase. Ce test a été réalisé pour les isolats transparents (lactose –) qui peuvent être des bacilles à Gram négatif non fermentaires qui possèdent généralement une oxydase. Si le résultat est négatif (oxydase –), l'isolat est considéré comme entérobactérie.

➤ Mode opératoire (Figure 11)

- ✓ A l'aide d'une pince recouverte du papier film, placer un disque d'oxydase sur une lame propre.
- ✓ Imprégner le disque avec quelques gouttes d'eau physiologie stérile.
- ✓ Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.
- ✓ Frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration violette.

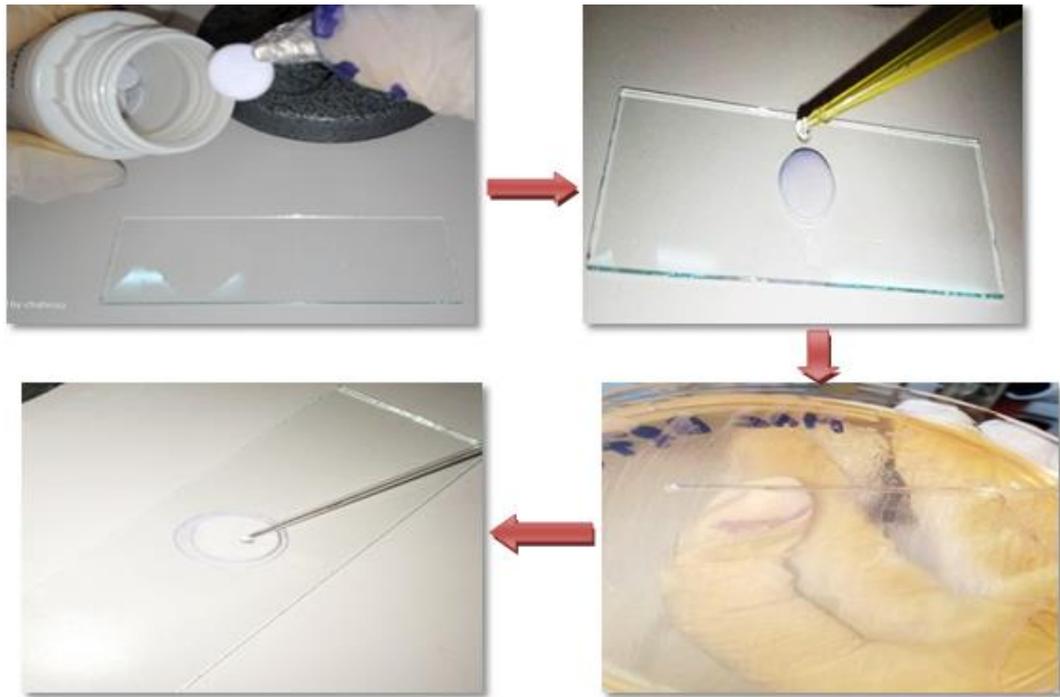


Figure 11 :Test oxydase (photos personnelles)

➤ **Lecture**

- **Réaction positive** : coloration violette dans un délai de 3 secondes;
- **Réaction négative**: absence de coloration au-delà de 30 secondes (**Microbiologie clinique, 2022**)

g) Conservation (Figure 12)

- ✓ Repiquer chaque isolat pur sur gélose nutritive inclinée par ensemencement en stries;
- ✓ Incuber 24 heures à 37 °C;
- ✓ Conserver les tubes au réfrigérateur ou à température ambiante en position verticale en notant la date de conservation et le code de l'isolat.

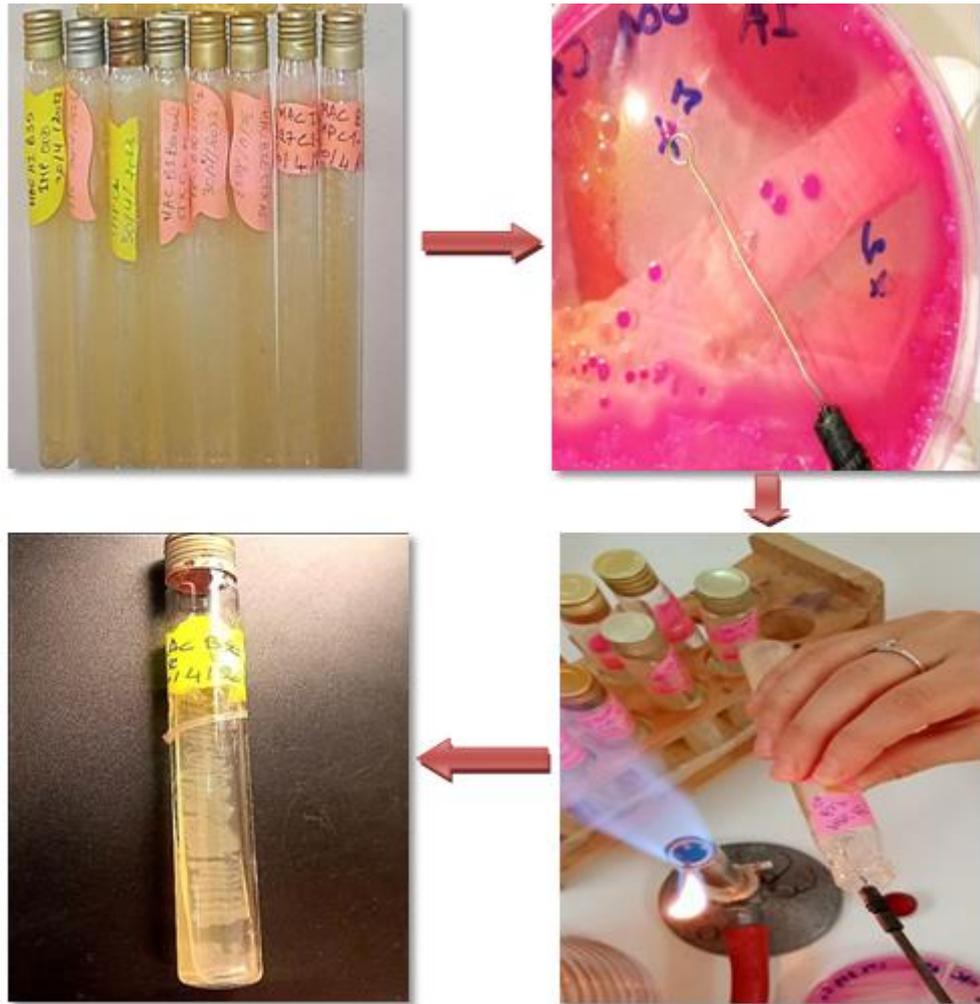


Figure 12 : Conservation des isolats (photos personnelles)



Chapitre III

Résultats et

discussion

III.1. Examens préliminaires

Dans notre travail, l'identification des entérobactéries a été faite selon les résultats des examens préliminaires : l'examen macroscopique déterminant les caractères cultureux, l'examen microscopique par coloration de Gram et le test oxydase.

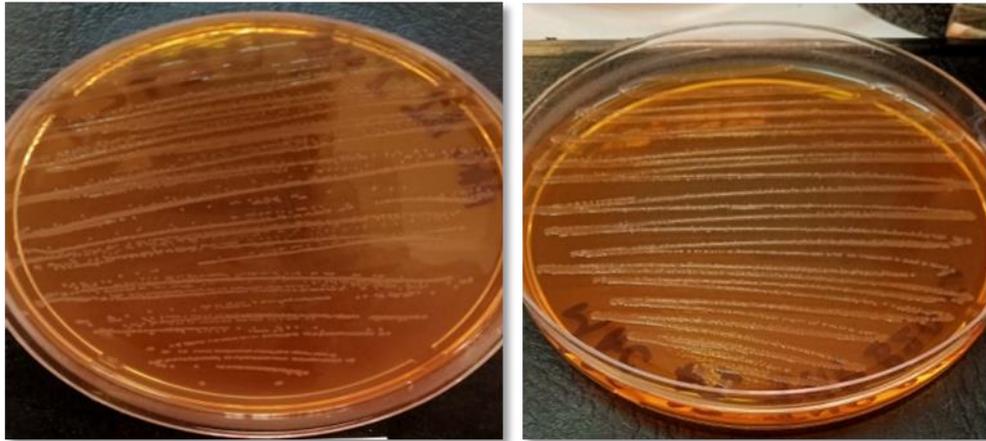
III.1.1. Examen macroscopique

Ce travail a porté sur l'isolement des ERC3G sur gélose Mac-Conkey + CTX à 1mg/L et des ERC sur gélose Mac-Conkey + IMP à 2mg/L, à partir de 36 échantillons de blanc de poulet prélevés dans trois communes (Cheria, Hammamet et Tébessa) de Tébessa. Après incubation, 23 échantillons ont donné une culture sur l'un ou les deux milieux, alors que 13 échantillons étaient négatifs, c.-à-d. soit ils n'ont donné aucune culture sur les deux milieux sélectifs, soit ils ont donné des *Pseudomonas*.

Selon la couleur, la forme, la taille des colonies obtenues sur les deux milieux, on a pu distinguer 5 aspects cultureux. Ces différents aspects sont décrits dans le **tableau 2**, et présentés dans les **figures 13, 14, 15, 16 et 17**.

Tableau 2 : Description des différents aspects cultureux.

Aspect	Couleur	Forme	Elevation	Consistance	Contour	Taille
A	Transparente	Ronde	Aplatie	Lisse	Régulier sans anneau	Petite
B		Ronde	Aspect en cratère	Muqueuse	Irrégulier avec anneau	Moyenne
C	Rose Clair	Ronde	Aplatie	Lisse	Régulier Sans anneau	Petite
D		Ronde	Bombée	Muqueuse	Régulier avec ou sans précipité	Moyenne
E	Rose foncé	Ronde	Aplatie	Lisse	Régulier Avec anneau	Petite

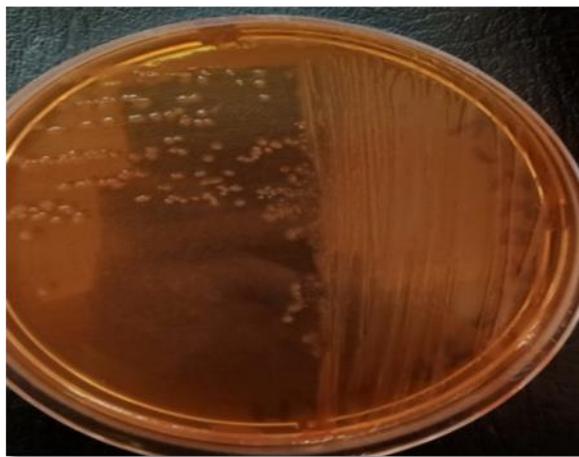


**Isolat : MAC B 27
IMP C1**

**Isolat : MAC B 20
IMP C1**

B : blanc de poulet, **C 1** : colonie de type

Figure 13 : Aspect cultural A sur gélose Mac Conkey

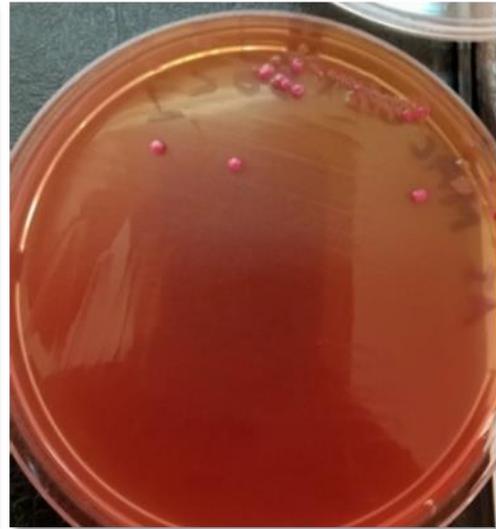


Isolat : B33 CTX C1

Figure 14: Aspect cultural B sur gélose Mac Conkey



Isolat : MAC B 27IMP
C2



Isolat : MAC B 06CTX
C1



Isolat : MAC B 28CTX C1

Figure 15 : Aspect cultural C sur gélose Mac Conkey



Figure 16 : Aspect cultural D sur gélose Mac Conkey

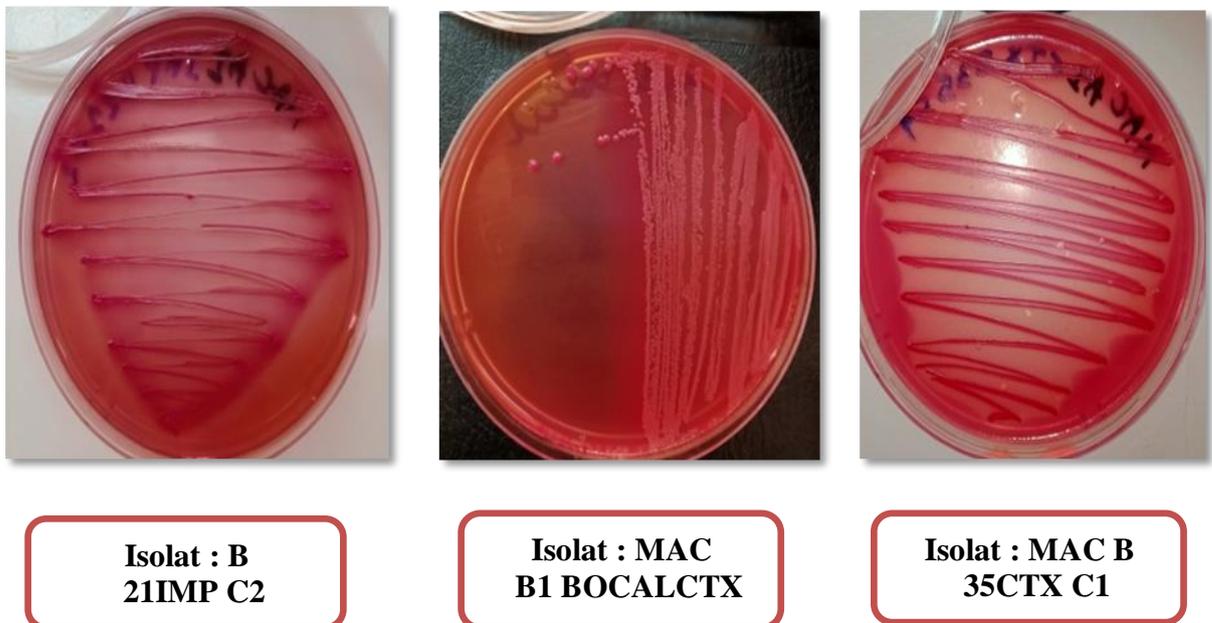


Figure 17 : Aspect cultural E sur gélose Mac Conkey

III.1.2. Examen microscopique

Après coloration de Gram des colonies isolées sur Mac-Conkey, l'observation microscopique a montré deux formes de bacilles à Gram négatif (**figure 18**).

- **Aspect (a)** : bacilles courts isolés ou regroupés en paires.
- **Aspect (b)** : coccobacilles isolés ou regroupés en paires.



Aspect (a)

Aspect (b)

Figure 18 : Aspects microscopiques observés après coloration de Gram

III.1.3. Test oxydase:

Nous avons effectué un test oxydase pour 13 isolats transparents. Les résultats sont présentés dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Résultats du test oxydase

Isolat	Test d'oxydase
B01 IMP Ziploc	Négatif
B14 CTX	Positif
B19 IMP	Négatif
B20 CTX C2	Positif
B21 CTX C1	Négatif
B21 IMP C1	Négatif
B22 IMP C1	Négatif
B26 IMP C1	Négatif
B27 CTX C2	Négatif
B29 IMP	Négatif
B30 IMP C1	Négatif
B35 IMP	Positif
B36 IMP C2	Positif

Parmi 13 isolats testés, 9 isolats ont donné une réaction négative (**figure 19.b**), ce sont donc des entérobactéries. Alors que 4 isolats ont donné une réaction positive (**figure 19.a**), ce sont des bacilles à Gram négatif non fermentaires (non entérobactéries) qui peuvent être des *Pseudomonas aeruginosa*. Cette bactérie est connue par sa résistance naturelle au céfotaxime et peut être résistante aux carbapénèmes (**Barbier et Wolff, 2010**). Pour cette raison, elle a pu se développer sur les milieux additionnés de ces antibiotiques.

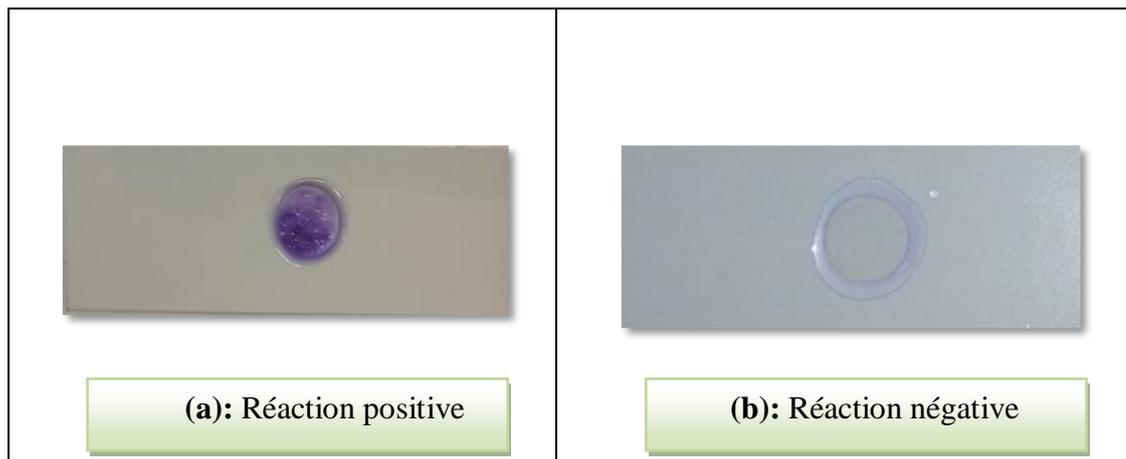


Figure 19:Test oxydase

III.2. Répartition des isolats selon l'aspect macroscopique

Les examens préliminaires nous ont permis de retenir 52 isolats appartenant aux entérobactéries dont 31 isolats d' ERC3G et 21 isolats d' ERC. Ces isolats ont été répartis selon les cinq aspects (**figure 20**) précédemment décrits comme suit :

- aspect A : 18 isolats;
- aspect B : 5 isolats;
- aspect C : 13 isolats;
- aspect D : 3 isolats;
- aspect E : 13 isolats.

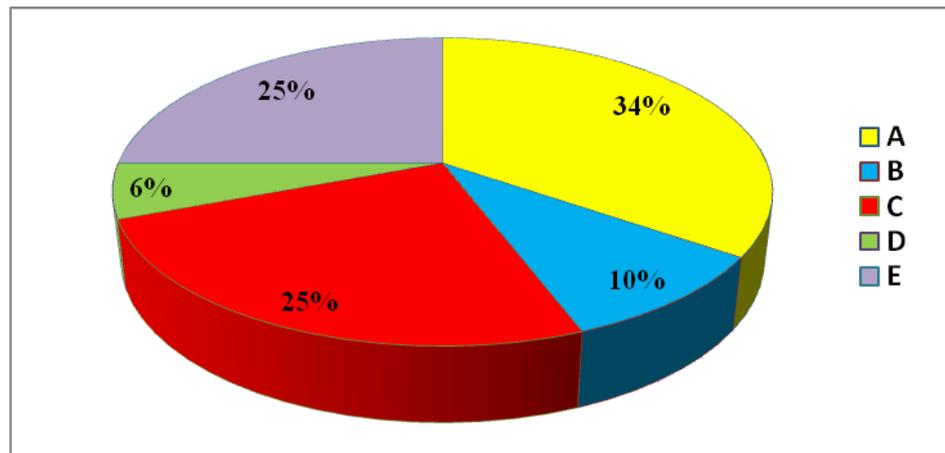


Figure 20 : Répartition des isolats selon l'aspect macroscopique

En se basant sur les caractères culturaux (**Microbiologie clinique,2022; Microbiologie medicale.fr, 2023**), la plupart des isolats retenus ont été rapprochés aux coliformes. Il s'agit des isolats lactose positifs (colonies roses) présentés par trois aspects : l'aspect C (25%) caractéristique de *Serratia* et *Citrobacter*, l'aspect D (6%) caractéristique de *Klebsiella pneumoniae* et l'aspect E (25%) caractéristique d'*E.coli*. Pour les isolats lactose négatifs (colonies transparentes) présentés par les deux aspects A (34%) et B (10%), il s'agit probablement des *Salmonella*, *Shigella* ou *Proteus mirabilis*.

III.3. Prévalence des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération

Les résultats ont montré que 22 des 36 échantillons de viande de poulet, contenaient des ERC3G (**figure 21**), parmi lesquels, 16 échantillons ont donné plus qu'un isolat.

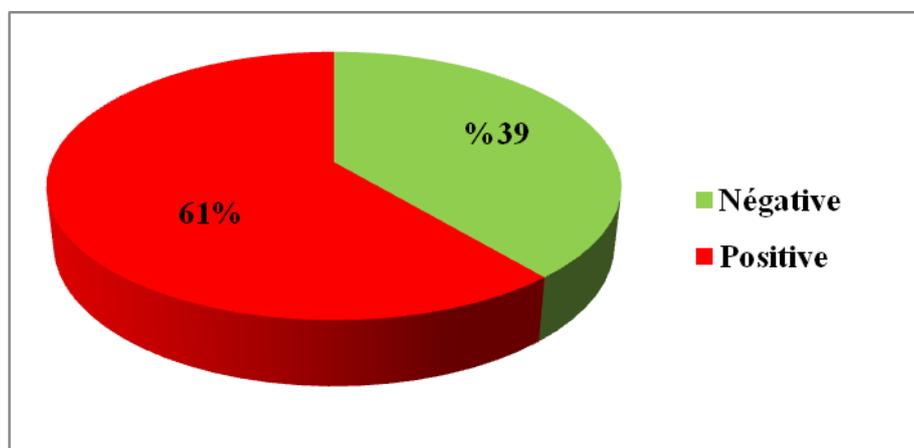


Figure 21 : Prévalence des ERC3G dans la viande de poulet

Dans la présente étude, la prévalence des ERC3G dans la viande de poulet est de 61%, elle est supérieure à celle rapportée dans une étude (**Rybak et al., 2022**) menée en Pologne sur 17 échantillons de viande de poulet où une prévalence de 23,52 % a été notée, avec des taux de 16,67 % et 0 % pour *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* respectivement par rapport au total des ERC3G isolées. Dans notre étude, on a observé des taux plus élevés : sur un total de 31 isolats d'ERC3G, on a trouvé 10 (32,25 %) isolats caractéristiques d'*E. coli* et un seul isolat (3,22 %) caractéristique de *Klebsiella pneumoniae*.

Ainsi, notre résultat dépasse celui rapporté dans une autre étude (**Tekiner et Özpınar, 2016**) où une prévalence de 40% des ERC3G a été observée, mais avec des taux plus élevés d'*E.coli* et *Klebsiella pneumoniae* (82,8 % et 6,9 % respectivement).

Cependant, notre résultat est inférieur à celui rapporté dans une étude récente à Tébessa (**Necib et Brai, 2019**) dans laquelle une prévalence élevée des ERC3G était de 92,3 %.

Dans une autre étude (**Bedekelabou et al., 2020**), portant sur 88 échantillons, seulement une souche de *Klebsiella spp* et une souche d'*E. coli*, résistantes au céfotaxime, ont été isolées, mais aucune souche de *Salmonella* n'a été isolée.

Quant aux *E. coli* résistants aux C3G, 9 échantillons étaient contaminés par ces bactéries avec une proportion de 25%. Notre résultat est similaire à celui rapporté dans une autre étude (**Perrin-Guyomard et al., 2021**) où une prévalence de 26% a été observée, dans les viandes fraîches de poulet à la distribution en France en 2018. Il est également comparable au taux rapporté dans une étude similaire (**Vounba et al., 2019**) qui était de 31,35 %. Cependant, il est bien inférieur à celui rapporté dans une étude espagnole (**Egea et al., 2012**) dans laquelle une prévalence très élevée des *E.coli* résistants aux C3G était de 93,3%.

Dans notre recherche, 11/36 (30,56%) échantillons ont donné des isolats suspects de *Salmonella*. Ce résultat est notable par rapport à celui rapporté par (**Bedekelabou et al., 2020**) qui ont trouvé une prévalence de 0% pour *Salmonella* résistants aux C3G.

III.4. Prévalence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes

Les résultats ont montré que 14 des 36 échantillons contenaient des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (**figure 22**), dont 9 ont donné plus qu'un isolat.

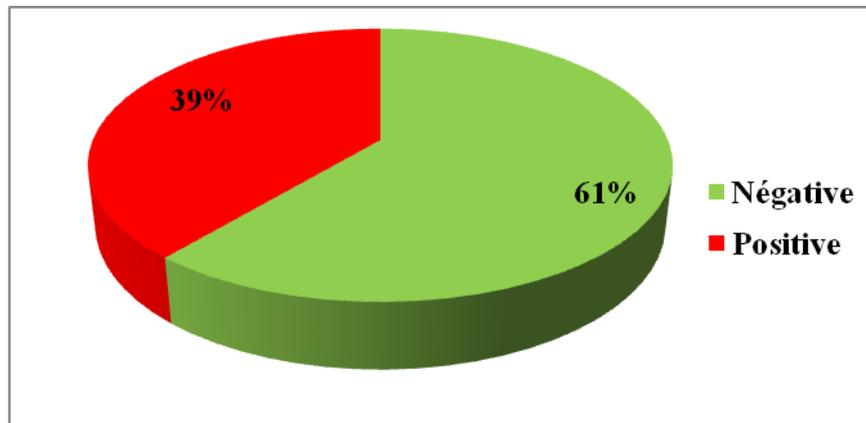


Figure 22 : Prévalence des ERC dans la viande de poulet

Dans deux études (**Egea *et al.*, 2012**; **Necib et Brai, 2019**) menées dans le même contexte, la prévalence des ERC était de 0%.

En France, la surveillance de la résistance des *E. coli* aux carbapénèmes dans les viandes fraîches à la distribution a montré qu'entre 2016 et 2019, aucune souche résistante aux carbapénèmes n'a été détectée (**Perrin-Guyomard *et al.*, 2021**). Tandis que dans notre étude, on a noté 3 échantillons contenant des *E.coli* résistants aux carbapénèmes, avec une prévalence de 8,33%.

III.5. Prévalence des échantillons positifs aux ERC3G et/ou aux ERC dans la viande de poulet :

Sur les 36 échantillons de viande de poulet, 23 échantillons étaient positifs, parmi lesquels, 9 étaient contaminés par des ERC3G uniquement, un échantillon était contaminé par des ERC uniquement et 13 échantillons étaient positifs pour ERC3G et ERC.

Ainsi, il est évident que la prévalence des échantillons contenant des ERC3G et des ERC est la plus élevée (13/36). Cela pourrait s'expliquer par le fait que la résistance aux carbapénèmes est fréquemment associée à la résistance aux C3G impliquant généralement des bêta-lactamases agissant sur les deux types de bêta-lactamines.

Après avoir interrogé plusieurs vétérinaires à Tébessa, Constantine, Bordj Bou Arreridj, et Alger, ils ont confirmé que les carbapénèmes et les céphalosporines de troisième génération n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché chez les animaux de rente. Elles sont à réserver autant que possible à la médecine humaine pour éviter le développement des résistances (**Ben Youssef et Hajji, 2016**).

Cependant, nous assistons actuellement à l'augmentation du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques, aussi bien chez l'homme que chez l'animal, et à l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance (**Babouche et Diaf, 2022**). L'origine de ces bactéries pourrait provenir de l'utilisation massive et irrationnelle d'antibiotiques, notamment ceux interdits en aviculture comme les C3G et les carbapénèmes, qui cause un problème de santé publique extrêmement préoccupant, qui ne cesse d'affecter de nombreux pays, même ceux disposant des meilleurs structures sanitaires (**Ben Youssef et Hajji, 2016**). En plus, les élevages sont des sources de contamination de la viande de poulet par les entérobactéries, lorsque plusieurs paramètres peuvent apparaître potentiellement favorables (**Babouche et Diaf, 2022**). En effet, le manque d'hygiène et les opérations ultérieures d'abattage et de transformation des étapes à risque pour l'introduction ou la diffusion des germes, notamment ceux résistants aux antibiotiques (**Amra et Chaabane, 2018**).

Une autre raison de l'apparition des résistances des entérobactéries à ces classes d'antibiotiques est du fait que les éleveurs mélangent souvent des antibiotiques aux aliments, comme produit adjuvant, et ce, sans aucune règle ni aucun contrôle, ce qui peut provoquer la sélection de nombreuses souches résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques (**Necib et Brai, 2019**).

Ainsi, la présence de ces bactéries résistantes dans la viande pose un problème de santé publique car elle peut compromettre l'efficacité des traitements antibiotiques chez l'homme et l'animal (**Perrin-Guyomard et al., 2021**).



Conclusions et perspectives

Conclusion et perspectives

Les céphalosporines de troisième génération et les carbapénèmes sont des antibiotiques très efficaces pour traiter des infections à bactéries multirésistantes en médecine humaine, mais interdits en aviculture. Cependant, nous connaissons une diffusion des entérobactéries résistantes à ces antibiotiques aussi bien chez l'homme que chez les animaux de rente, en particulier la volaille. Par conséquent, les viandes produites seront contaminées par ces bactéries.

Notre travail vise à isoler des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (ERC3G) et des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC) dans la viande de poulet commercialisée à Tébessa.

L'isolement de ces bactéries, à partir des échantillons de blanc de poulet, a été fait sur milieu Mac Conkey rendu sélectif par addition des antibiotiques : céfotaxime pour les ERC3G et imipénème pour les ERC. Les entérobactéries ont été identifiées sur la base des examens préliminaires : examen macroscopique, examen microscopique et test d'oxydase.

Les résultats ont montré une prévalence élevée de contamination par les ERC3G et une prévalence modérée de contamination par les ERC dans la viande de poule. La plupart des échantillons positifs étaient contaminés à la fois par des ERC3G et des ERC. Les isolats ont été attribués aux genres : *Escherichia*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella* et *Proteus*.

Notre étude a permis de constater que la viande de poulet commercialisée à Tébessa est contaminée par des ERC3G et des ERC à des taux élevés. Ainsi, la consommation de cette denrée peut contribuer à la propagation de l'antibiorésistance, tout comme elle peut être responsable de pathologies alimentaires, qui se heurteront à des difficultés thérapeutiques, notamment lorsqu'il s'agit des souches d'entérobactéries multirésistantes.

Pour cela, il est nécessaire de mettre en place une surveillance bactériologique dans les élevages de poulets, de restreindre l'utilisation anarchique des antibiotiques et d'introduire de bonnes pratiques d'hygiène.

En perspectives, nos résultats restent préliminaires et méritent d'être exploités et complétés par l'identification biochimique par la galerie API20E des isolats retenus et la caractérisation phénotypique et moléculaire des mécanismes de résistance aux bêta-lactamines.



Références

bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Amairi, T. (2021).** Résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie [en ligne]. Thèse de doctorat : Microbiologie. Biskra : Université Mohamed Khider, 123p.
- **Amra, A., Chaabane, S. (2018).** Recherche des carbapénèmases chez des souches bactériennes isolées des viandes de volailles [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Tébessa : Université Laarbi Tebessi, 86p.

B

- **Babouche, S., Diaf, A. (2022).** Prévalences des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de denrées alimentaires d'origine animales commercialisées dans la région de BBA [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Bordj Bouriridj : Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, 56p.
- **Barbier, F., Wolff, M. (2010).** Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*-Vers l'impasse thérapeutique? *médecine/sciences* [en ligne], 26(11), 960-968p.
- **Bedekelabou, P., Talaki, E., Dolou, M., Diouf, A., Alambedji, R. (2020).** Antibiotic resistance of enterobacteria (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* and *Salmonella spp*) isolated from healthy poultry and pig farms in peri-urban area of Lome, Togo. *African Journal of Microbiology Research* [en ligne], 14(12), 657-666p.
- **Bellahoues, T., Gouizi, S. (2017).** Comparaison entre poulet traditionnel et poulet industriel: analyses bactériologiques et dosage des protéines [en ligne]. Mémoire de master : Sciences agronomiques. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 101p.
- **Ben Youssef, S., Hajji, M. (2016).** Codex des médicaments vétérinaires de Tunisie, 227p.
- **Benzair, K., Korichi, O. (2018).** Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes isolées à partir des animaux (dromadaires et poulets) [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie Appliquée. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 69p.
- **Boudouika, A., Ghat, K. (2017).** Étude de la contamination bactérienne des viandes réfrigérées par les *Pseudomonas* de la flore psychrotrophe [en ligne]. Mémoire de master :

Microbiologie Générale et la Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 80p.

C

- **Cardinale, E., Tall, F., Kané, P. (2000).** Qualité de la viande de poulet de chair. Statut microbiologique et résidus médicamenteux: vers une meilleure gestion des risques [en ligne]. Montpellier: *cirad-emvt*, 17 p.
- **Codex alimentaire, (2003).** Glossaire de Termes et Définitions (pour les résidus des médicaments vétérinaires dans les aliments). CAC/OMS 5-1993. Amendé en 2003. *FAO/OMS*, 1-4p.
- **Codex alimentaire. (2015).** Norme pour le luncheon meat : Codex Stan 89-1981. *FAO/OMS*, 1-4p.
- **Cuzon, G., Naas, T., Nordmann, P. (2009).** KPC carbapenemases: what is at stake in clinical microbiology? *Pathologie-biologie* [en ligne], 58(1), 39-45p.

D

- **Djemli, S., Fadel, D. (2021).** Résidus d'antibiotiques dans la viande du poulet de chair [en ligne]. Thèse de doctorat : Sciences alimentaires. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 85p.

E

- **Egea, P., López-Cerero, L., Torres, E., del Carmen, M., Serrano, L., Sánchez-Ortiz, M., Pascual, A. (2012).** Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the south of Spain. *International journal of food microbiology* [en ligne], 159(2), 69-73p.

G

- **Gouasmia, R., Hechachenia, M. (2015).** Usage des antibiotiques en élevage et risque sur la santé humaine [en ligne]. Mémoire de master : Qualité des produits et sécurité alimentaire. Guelma : Université 8 Mai 1945, 84p.

K

- **Kaci, A., Cheriet, F. (2013).** Analyse de la compétitivité de la filière de viande de volailles en Algérie : *tentatives d'explication d'une déstructuration chronique* [en ligne], (2), 11p.

L

- **Lagha, N. (2015).** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat [en ligne]. Thèse de Doctorat : Sciences biologiques. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd, 105p.

M

- **Mahboub, S., Mansouri, B. (2021).** Isolement et identification phénotypique des bactéries psychrotrophes «*Pseudomonas*» des viandes cameline et bovine réfrigérées [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 103p.
- **Mechri, S. (2020).** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires en milieu hospitalier [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie et hygiène hospitalière. Constantine : Université des frères Mentouri Constantine 1, 117p.
- **Microbiologie clinique (2022).** Gélose Mac Conkey, principe, préparation et interprétation [en ligne]. Disponible sur : <https://microbiologie-clinique.com/macconkey.html> (consulter le 05/05/2023).
- **Microbiologie clinique (2022).** Test de l'oxydase [en ligne]. Disponible sur : <https://microbiologie-clinique.com/oxydase-test.html> (consulter le 03/05/2023).
- **Microbiologie medicale.fr (2023).** Gélose Mac Conkey [en ligne]. Disponible sur : <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-mac-conkey> (consulter le 06/05/2023).

N

- **Necib, M., Brai, S. (2019).** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées des viandes de volaille [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Tébessa : Université Laarbi Tébessi, 118p.

P

- **Perrin-Guyomard, A., Kempf, I., Adam, C., Granier, S. (2021).** Prévalence des *Escherichia coli* résistants aux céphalosporines de troisième génération ou aux carbapénèmes dans les viandes fraîches à la distribution en France. *Bulletin épidémiologique* [en ligne], 1-9p.

R

- **Rybak, B., Potrykus, M., Plenis, A., Wolska, L. (2022).** Raw Meat Contaminated with Cephalosporin-Resistant Enterobacterales as a Potential Source of Human Home Exposure to Multidrug-Resistant Bacteria. *Molecules* [en ligne], 27(13), 20p.

S

- **Said, R. (2015).** Etudes qualitatives et quantitatives des résidus d'antibiotiques dans la viande de volaille et les œufs dans la région de la Mitidja. Utilisation des probiotiques comme alternative [en ligne]. Thèse de doctorat : Sciences biologiques. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 49P.

- **Senouci, R., Maamri, C., Amroune, K. (2020).** Isolement des Entérobactéries à partir des aliments de Fast-food dans la ville de Tebessa [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Tébessa : Université Laarbi Tebessi, 74p.

- **Sonnet, M. (2020).** Les entérobactéries face aux céphalosporines de 3ème génération et carbapénèmes évolution, actualité, problématique [en ligne]. Mémoire de master : Sciences du vivant. Belgique : Université de Médecine vétérinaire, 34p.

T

- **Tekiner, H., Özpınar, H. (2016).** Occurrence and characteristics of extended spectrum bêta-lactamases-producing *Enterobacteriaceae* from foods of animal origin. *Brazilian journal of microbiology* [en ligne], 47(2), 444-451p.

V

- **Vidal^R l'intelligence médicale au service du soin (2014).** Substance active imipénem [en ligne]. Disponible sur : <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/imipenem-6797.html> (Consulter le 28/03/2023).

- **Vounba, P., Arsenault, J., Bada-Alambédji, R., Fairbrother, J. (2019).** Prevalence of antimicrobial resistance and potential pathogenicity, and possible spread of third generation cephalosporin resistance, in *Escherichia coli* isolated from healthy chicken farms in the region of Dakar. *Plos one* [en ligne], 14(3). e0214304.23p.

W

- **Wolff, M., Joly-Guillou, M., Pajot, O. (2008).** Le point sur les carbapénèmes. *Réanimation* [en ligne], 17(3), 242-250p.
- **Wolff, M., Joly-Guillou, M., Pajot, O. (2009).** Les carbapénèmes. *Réanimation* [en ligne], 18(2), 199-208p.



Annexes

Annexe i : Dates et lieux de prélèvement des échantillons.

Date de prélèvement	Numéro de l'échantillon	Lieu de prélèvement
28 Février 2023	01	Quartier El-wiam 02, Tébessa
04 Mars 2023	02	Point de vente 01, Route de Taz Bint, Cheria
	03	Point de vente 02, Route de Taz Bint, Cheria
	04	Point de vente 01, Centre-ville, Cheria
	05	Point de vente 02, Centre-ville, Cheria
	06	Point de vente 03, Centre-ville, Cheria
	07	Point de vente 04, Centre-ville, Cheria
5 Mars 2023	08	Point de vente 01, Le village, Cheria
	09	Route de la rocade, Cheria
	10	Point de vente 02, Le village, Cheria
	11	Point de vente 03, Route de Taz Bint, Cheria
	12	Point de vente 01, Route de Tébessa, Cheria
	13	Point de vente 02, Route de Tébessa, Cheria
11 Mars 2023	14	Point de vente 01, Route de Khenchela, Cheria
	15	Point de vente 02, Route de Khenchela, Cheria
	16	La City, Cheria
	17	Route de Al-Kalila, Cheria
	18	Point de vente 01, Route de Dalaa, Cheria
	19	Point de vente 02, Route de Dalaa, Cheria

Suite de l'annexe i : Dates et lieux de prélèvement des échantillons.

Date de prélèvement	Numéro de l'échantillon	Lieu de prélèvement
12 Mars 2023	20	Point de vente 03,Route de Tébessa, Cheria
	21	Point de vente 04,Route de Tébessa, Cheria
	22	Point de vente 01, marché, Cheria
	23	Point de vente 02, marché, Cheria
	24	Point de vente 03, marché, Cheria
	25	Point de vente 04, marché, Cheria
	26	Point de vente 05 marché, Cheria
	27	Point de vente 05,Route de Tébessa, Cheria
	28	Point de vente 06, marché, Cheria
	29	Point de vente 07, marché, Cheria
	30	Point de vente 08, marché, Cheria
13 Mars 2023	31	Route de Tébessa, Hammamet
	32	Point de vente 01, centre-ville, Hammamet
	33	Point de vente 02, centre-ville, Hammamet
	34	Point de vente 03, centre-ville, Hammamet
	35	Point de vente 04, centre-ville, Hammamet
	36	Point de vente 05, centre-ville, Hammamet

Annexe ii : Composition et préparation des milieux de culture utilisés pour 1 litre de milieu.
➤ Composition de l'eau peptonée tamponnée

- Peptone 10,0g
- Chlorure de sodium5,0g
- Phosphate disodique anhydre3,5g
- Dihydrogéo-phosphate de potassium 1,5g

pH 7,2 ± 0,2

➤ Composition du bouillon Tryptone-sel

- Tryptone.....1g
- NaCl.....8,,5g

➤ Préparation du bouillon Tryptone-sel

- Mettre en solution 8,5 g de NaCl et 1g de Tryptone dans 1 litre d'eau distillée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 à 20 minutes.
- Refroidir le milieu à température ambiante.

➤ Composition du milieu Mac-Conkey

- Gélose bactériologique13,5 g
- Sels biliaires.....1,5 g
- Cristal violet..... 0,001g
- Digestion pancréatique de gélatine.....17 g
- Rouge neutre..... 0,03 g
- Mélange peptoné.....3 g
- Chlorure de sodium.....5 g
- Lactose monohydraté.....10 g

pH final à 25°C : 7,1 ± 0,2

➤ **Composition de la gélose nutritive (GN)**

- Tryptone 5,0 g
- Extrait de viande3,0 g
- Agar agar bactériologique.....12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : $7,0 \pm 0,2$.

➤ **Préparation de la GN inclinée**

- Dissoudre 20 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante jusqu'à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes à raison de 7 ml par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Laisser solidifier sur une surface froide en position oblique en créant une pente plus ou moins longue.

Annexe iii : Appareillage et verreries utilisés

Appareillage	Instruments et consommables	Verreries	Produits
Stérilisateur	Micropipette	Tubes à essai	Imipénème injectable
Etuve bactériologique réglable à 37°C	Couteau	Pipette graduée	Céfotaxime injectable
Balance	Papier aluminium	Flacons	Chlorure de sodium
Plaque chauffante	Les bocal	Becher	Tryptone
Autoclave	Zip loc	Entonnoir	Disques Oxydase
Microscope optique	Glacière	Pipette Pasteur	Violet de Gentiane
Réfrigérateur	Barreaux aimantés		Lugol
Bec Bunsen	Portoir métallique		Fuchsine
	Portoir en bois		Ethanol
	Anse de platine		Eau distillée
	Embouts		
	Pince		
	Spatule		
	Lames		
	Boîtes de Pétri		
	Papier absorbant		
	Marqueur permanent		

Annexe iv : Résultats de l'isolement sélectif des ERC3G et ERC

Echantillon	Milieu sélectif	
	Mac-Conkey +CTX	Mac-Conkey +IMP
B1	+	+
B2	-	-
B3	+	-
B4	-	-
B5	+	-
B6	+	-
B7	-	-
B8	-	-
B9	-	-
B10	+	-
B11	-	-
B12	+	-
B13	+	-
B14	-	-
B15	-	-
B16	-	-
B17	-	-
B18	-	-
B19	+	+
B20	+	+
B21	+	+
B22	+	+
B23	+	-
B24	-	-
B25	+	+
B26	+	+
B27	+	+
B28	+	+

Suite de l'annexe iv: Résultats de l'isolement sélectif des ERC3G et ERC

Echantillon	Milieu sélectif	
	Mac-Conkey + CTX	Mac-Conkey +IMP
B29	+	+
B30	+	+
B31	+	+
B32	+	+
B33	+	-
B34	-	-
B35	+	-
B36	-	+