



République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique Université Echahid Cheikh
Larbi Tebessi-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

**Identification biochimique et caractérisation phénotypique
de la résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries
isolées dans la viande de poulet**

Présenté par :

ACHOUR Dounia

SEHAILLIA Wafa

Devant le jury composé de :

Président	Mr DJABRI Belgacem	Professeur	U.E.C.L.T -Tébessa
Promotrice	Mme. DEBABZA Manel	Professeur	U.E.C.L.T -Tébessa
Co-promoteur	Mr. MECHAI Abdelbasset	Professeur	U.E.C.L.T -Tébessa
Examinatrice	Mme. SMAALI Saoussene	MCA	U.E.C.L.T -Tébessa

Date de soutenance : 12 juin 2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ



A l'issue de ce travail, nous remercions Allah avant tout, car il nous a accordé la force, la santé, la patience, et la bravoure, et a semé dans nos cœurs l'amour de l'érudition et la persévérance pour poursuivre et atteindre notre objectif en fin de compte.

Nous tenons tout d'abord à remercier notre directrice de mémoire, Pr Debabza Manel, Professeur en microbiologie à l'université de Tébessa, pour son soutien constant tout au long de ce travail, pour être à nos côtés et pour sa confiance en nous afin de mener à bien ce parcours. Nous remercions également notre co-directeur de mémoire, le professeur Mechai Abdelbasset, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils.

Nous adressons aux membres de jury : Pr Djabri Blegacem et Dr Smaali d'avoir accepté de juger ce mémoire et porter un jugement critique et judicieux sur ce dernier.

Nous adressons également nos sincères remerciements à Dr. Malki Aissa, vétérinaire à Cheria, wilaya de Tébessa, pour ses efforts, son soutien constant et ses précieux conseils tout au long de ce travail. Dr. Amar Zegdoudi, vétérinaire d'El Aklah, wilaya de Tébessa, nous vous adressons nos plus sincères remerciements. Nous vous sommes très reconnaissants pour le soutien, l'assistance et la motivation que vous nous avez apportés dans le cadre de notre travail.

Nos remerciements vont également à Melle Assma Bouallag, responsable du laboratoire 02 de microbiologie, pour le soutien matériel et moral qu'elle nous a apporté et pour être restée à nos côtés dans toutes les circonstances.

Nous vous exprimons notre profonde gratitude et nos sincères remerciements pour ce que vous avez fait et dit tout au long de ce parcours.

Merci



Dédicace

À mon très cher et irremplaçable PAPA, Cherif, qui a toujours été mon roc, mon guide et mon inspiration, je dédie ce mémoire avec toute ma gratitude et mon amour infini.

À ma très chère MAMAN Karima, source inépuisable de tendresse, de soutien et de sagesse, qui a toujours cru en moi et m'a encouragé à poursuivre mes rêves, cette réussite est également la vôtre.

À mes très chers frères Seif El-islem et Ahmed, qui ont partagé avec moi tant de moments précieux et qui m'ont toujours soutenu dans les hauts comme dans les bas.

À mes très chères sœurs, Aicha et Djihane, dont la présence lumineuse et le soutien indéfectible ont enrichi ma vie de mille façons, je vous suis reconnaissant pour tout.

À tous les membres de ma famille, sans exception, qui ont été mes piliers, mes compagnons de route et mes sources inépuisables d'amour et d'encouragement.

Et à tous ceux dont le cœur bat pour ma réussite, dont les encouragements et le soutien m'ont porté tout au long de ce parcours, je vous adresse ma plus profonde reconnaissance et ma gratitude éternelle.

À tous les enseignants qui ont croisé mon chemin, depuis mes premiers pas à l'école primaire jusqu'à aujourd'hui, je vous remercie pour votre dévouement, votre patience et votre passion qui ont façonné mon parcours académique.

À mon binôme, Wafa, la fille qui a partagé avec moi les rires, les larmes et les défis de ce chemin académique, ta présence a été un soutien inestimable et je suis reconnaissant de t'avoir à mes côtés.

Dounia





Dédicace

Je dédie ce mémoire à tous ceux qui ont contribué à ma réussite jusqu'à cette étape, à tous ceux qui m'ont appris la signification de ces mots, en commençant par ma chère mère, ma bougie et ma force "Bournia", et mon père décédé "Djaballah", que j'aurais souhaité avoir à mes côtés en ce moment. Merci à vous deux pour m'avoir éduqué dans la connaissance. Sans vous deux, je n'aurais pas pu poursuivre mon chemin et aller vers mes rêves et ambitions.

À mes chères sœurs:

Pour votre soutien et votre confiance en moi.

À mes chers frères :

À mon cher frère" Sofiane", j'espère que viendra le jour où je pourrai te rendre ce que tu m'as donné, tu as été comme un père pour moi depuis son départ.

À mon cher frère" Saleh “, merci de supporter mes chers.

À tous mes amis: À tous mes amis : merci à tous de m'avoir soutenu, en particulier à mon cher ami et compagnon, ma petite doctoresse Sehailia Kawther, je te suis extrêmement reconnaissant pour ton soutien à chaque étape de ma vie.

À mon amie et ma binôme, Dounia Achour, j'espère que tu réalises tous tes rêves et atteignes tout ce que tu mérites vraiment, je te souhaite toujours d'avancer.

À tous mes enseignants : pour les connaissances que vous m'avez transmises et pour tous les efforts, en particulier à mon professeur Debabza Manel, merci d'avoir été comme une mère pour nous, merci pour votre travail avec nous.

Merci à vous tous, car vous avez été la raison de continuer à chercher tout au long de ma vie.

Wafa



Résumé

Des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (ERC3G) et des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC), ont émergé dans la filière avicole au cours de la dernière décennie. Les objectifs de la présente étude sont l'isolement de ces bactéries à partir de la viande de poulet, leur identification et la caractérisation de leur phénotype de résistance aux bêta-lactamines par la recherche des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et des carbapénémases (CP).

Un questionnaire destiné aux vétérinaires praticiens sur l'utilisation des bêta-lactamines dans l'élevage avicole a été établi. Les échantillons de blanc de poulet ont été prélevés aléatoirement dans 4 communes (Cheria, Tébessa, Hammamet et Bir Dhab). L'isolement des ERC3G et des ERC a été réalisé sur gélose Mac Conkey additionnée de céfotaxime (CTX) et d'imipénème (IMP) respectivement. Les isolats ont été identifiés par la galerie API20E. La recherche de la production des BLSE a été effectuée par trois tests : le test de synergie, le test de rapprochement des disques et le test du double disque. La recherche des CP a été procédée par le test de Carba NP après un screening des souches suspectées productrices de CP.

À partir de 31 échantillons, 50 isolats ont été identifiés comme entérobactéries, appartenant principalement à *Escherichia coli* (64%), suivi de *Proteus mirabilis* (8%), *Salmonella arizonae spp. choleraesuis*, *Klebsiella oxytoca* et *Morganella morganii* (6% chacune), *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri/farmeri*, *Enterobacter cloacae*, *Yersinia frederiksenii/intermedia* et *Raoultella ornithinolytica* (2% chacune). Les tests phénotypiques ont permis la détection des BLSE chez 28 souches (56%) avec prédominance d'*E. coli* (82,14%). Néanmoins, une seule souche (2%) a été détectée comme productrice de CP par le test CarbaNP.

Notre étude a montré que la viande de poulet peut être une source potentielle d'entérobactéries productrices de BLSE et de CP, qui pourraient être transférées aux humains via la chaîne alimentaire, ce qui pose un problème de santé publique en contribuant à la diffusion de la résistance aux antibiotiques.

Mots clés : Viande de poulet, entérobactéries, élevage avicole, bêta-lactamines, bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), carbapénémases.

Abstract

Third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae (3GCRE) and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) have emerged in the poultry sector over the past decade. The objectives of the present study are the isolation of these bacteria from chicken meat, their identification, and the characterization of their resistance phenotype for beta-lactams by the search for extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and carbapenemases (CP).

A questionnaire for practicing veterinarians on the use of beta-lactams in poultry farming was established. Chicken breast samples were randomly collected from four municipalities (Cheria, Tébessa, Hammamet, and Bir Dhab). The isolation of 3GCRE and CRE was performed on MacConkey agar supplemented with cefotaxime (CTX) and imipenem (IMP), respectively. The isolates were identified using the API20E system. The detection of ESBL production was carried out by three tests: the synergy test, the disc approximation test, and the double-disc test. The detection of CP was conducted using the Carba NP test after screening the strains suspected of producing CP.

From 31 samples, 50 isolates were identified as Enterobacteriaceae, mainly belonging to *Escherichia coli* (64%), followed by *Proteus mirabilis* (8%), *Salmonella arizonae* spp. *choleraesuis*, *Klebsiella oxytoca*, and *Morganella morganii* (6% each), *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri/farmeri*, *Enterobacter cloacae*, *Yersinia frederiksenii/intermedia*, and *Raoultella ornithinolytica* (2% each). Phenotypic tests allowed ESBL production in 28 strains (56%) with a predominance of *E. coli* (82.14%). However, only one strain (2%) was detected as CP producer by the Carba NP test.

Our study showed that chicken meat can be a potential source of ESBL- and CP-producing Enterobacteriaceae, which could be transferred to humans via the food chain, posing a public health issue by contributing to the spread of antibiotic resistance.

Keywords: Chicken meat, Enterobacteriaceae, poultry farming, beta-lactams, extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), carbapenemases.

ملخص

ظهرت البكتيريا المعوية المقاومة للسيفالوسبورين والجيل الثالث (ERC3G) و البكتيريا المعوية المقاومة للكاربابينيم (ERC) في شعبة الدواجن خلال العقد الماضي. أهداف الدراسة الحالية هي عزل هذه البكتيريا من لحم الدجاج و التعرف عليها و تحديد النمط الظاهري لمقاومتها للبيتا لاكتام من خلال البحث عن البيتا لاكتاماز ذات الطيف الموسع (BLSE) و الكاربابينيماز (CP).

تم إعداد استبيان مخصص للبيطريين الممارسين حول استخدام البيتا لاكتام في تربية الدواجن. تم أخذ عينات من صدور الدجاج بشكل عشوائي في 4 بلديات (الشريعة ، تبسة، الحمامات وبيير الذهب). تم إجراء عزل ERC3G و ERC على وسط Mac Conkey المضاف إليه سيفوتاكسيم (CTX) وإيميبينيم (IMP) على التوالي. تم التعرف على العزلات بواسطة نظام API20E. تم إجراء البحث عن إنتاج BLSE من خلال ثلاثة اختبارات: اختبار التأزر، واختبار تقريب الأقراص ، واختبار القرص المزدوج. تم إجراء البحث عن CP باستخدام اختبار Carba NP بعد فحص السلالات المشتبه في إنتاجها CP.

من بين 31 عينة، تم تحديد 50 عزلة على أنها بكتيريا معوية، تنتمي بشكل رئيسي إلى *Escherichia coli* (64%)، تليها *Proteus mirabilis* (8%) ، ، *Klebsiella oxytoca* ، *Morganella morganii* ، *Salmonella choleraesuis* (6% لكل منهم) ، *Citrobacter freundii* ، *Citrobacter farmer/koseri* ، *Enterobacter cloacae* ، *Yersinia frederiksenii/intermedia* و *Raoultella ornithinolytica* (2% لكل منهم). سمحت الاختبارات المظهرية باكتشاف BLSE في 28 سلالة (56%) مع تفوق *E.coli* (82.14%). ومع ذلك، تم اكتشاف سلالة واحدة فقط (2%) كمنتجة للـ CP بواسطة اختبار CarbaNP.

أظهرت دراستنا أن لحم الدجاج قد يكون مصدرًا محتملاً للبكتيريا المعوية المنتجة للـ BLSE و CP، والتي يمكن نقلها إلى البشر عبر السلسلة الغذائية، مما يشكل مشكلة صحية عامة من خلال المساهمة في انتشار مقاومة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: لحم الدجاج، البكتيريا المعوية، تربية الدواجن، بيتا لاكتام، بيتا لاكتاماز ذات الطيف الموسع (BLSE) ، كاربابينيماز.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Composition moyenne des viandes de poulet (en %).	4
02	Caractères biochimiques de quelques Entérobactéries.	10
03	Interprétation des résultats de test Carba NP.	43
04	Réponses à la question 01 du questionnaire	44
05	Réponses à la question 02 du questionnaire	44
06	Réponses à la question 03 du questionnaire	45
07	Réponses aux questions 04 et 05 du questionnaire	45
08	Réponses aux questions 06 et 07 du questionnaire	46
09	Réponses à la question 08 du questionnaire	46
10	Réponses à la question 09 du questionnaire	46
11	Réponses à la question 10 du questionnaire	47
12	Réponses à la question 11 du questionnaire	48
13	Description des différents aspects culturels.	49
14	Résultats de l'identification biochimique par API20E	50
15	Effectifs et pourcentages des souches per genre et espèce.	55
16	Comparaison des taux des Entérobactéries par espèce avec d'autres études.	56
17	Comparaison des taux de résistance aux carbapénèmes avec d'autres études.	66

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Anatomie et principales populations bactériennes dans les différentes parties du tube digestif des poulets.	6
02	Un aperçu de la production de viande de volaille indiquant l'impact des principales étapes de traitement sur le destin des bactéries dans le microbiome aviaire.	6
03	Tendances prévues de la consommation mondiale de viande par habitant (en kg) de 1990 à 2028.	7
04	Observation microscopique après coloration de Gram d'isolat de <i>Salmonella</i>	9
05	Aspect macroscopique de certaines entérobactéries sur gélose Mac Conkey.	9
06	Structure chimique des principales β -lactamines.	12
07	Transmission des bactéries résistantes des poulets aux humains.	14
08	Mécanisme d'hydrolyse de la pénicilline par une β -lactamase.	17
09	Classification des β -lactamases.	18
10	Schéma récapitulatif du protocole de travail.	22
11	Prélèvement et transport des échantillons.	24
12	Schéma récapitulatif du protocole d'isolement sélectif.	25
13	Etape du pré- enrichissement.	26
14	Préparation des solutions d'antibiotiques	27
15	Préparation de la gélose Mac Conkey	28
16	Ajout d'antibiotiques à la gélose Mac Conkey	29
17	Isolement sélectif.	29
18	Purification sur gélose Mac Conkey.	30
19	Conservation des isolats.	30
20	Repiquage des isolats.	31
21	Protocole de la réalisation d'API20E.	33
22	Organigramme des tests de détection des BLSE.	35
23	Comparaison de la suspension à l'étalon Mac Farland 0,5.	36
24	Protocole du test de synergie.	37
25	Disposition des disques pour le test de synergie.	37

26	Image de synergie en bouchon de champagne.	37
27	Réalisation de test double disque.	39
28	Lecture du test du double disque.	39
29	(A) Principe du test Carba NP, (B) Résultats du test Carba NP.	40
30	Protocole du test Carba NP.	42
31	Aspects macroscopiques (a),(b),(c),(d).	50
32	Aspects macroscopiques (d),(e),et(f).	51
33	Aspect microscopique des isolats après coloration de Gram.	52
34	API20E de la souche 10 (<i>Escherichia coli</i> 1).	53
35	API20E de la souche 7 (<i>Enterobacter cloacae</i>).	53
36	API20E de la souche 3 (<i>Proteus mirabilis</i>).	53
37	API20E de la souche 9 (<i>Klebsiella oxytoca</i>).	53
38	API20E de la souche 5 (<i>Morganella morganii</i>).	53
39	API20E de la souche 49 (<i>Salmonella choleraesuis</i> spp. <i>arizonae</i>).	54
40	API20E de la souche 6 (<i>Citrobacter koseri/farmeri</i>).	54
41	API20E de la souche 47 (<i>Raoultella ornithinolytica</i>).	54
42	Répartition des souches isolées selon les espèces.	55
43	Tests de synergie positifs.	59
44	Sensibilité des souches aux bêta-lactamines testées	60
45	Tests de rapprochement des disques positifs	61
46	Tests du double disque positifs	62
47	Sensibilité des souches à l'imipénème et au méropénème	65
48	Souches résistantes à l'imipénème	66
49	Résultats du test Carba NP.	67

Liste des annexes

Annexe N°	Titre
01	Quelques entérobactéries courantes et leur pouvoir pathogène.
02	Principales β -lactamines et leur structure chimique.
03	Résistances naturelles des entérobactéries aux β -lactamines
04	Appareils, instruments et consommables, verreries, réactifs et colorants utilisés.
05	Composition et préparation des milieux de culture utilisés pour 1 litre de milieu.
06	Fiche questionnaire -L'utilisation des bêta-lactamines dans l'élevage avicole.
07	Dates et lieux de prélèvement des échantillons.
08	Tableau de lecture de la galerie miniaturisé Api 20 ^E .
09	Préparation de l'étalon de turbidité McFarland 0,5.
10	Préparation des solutions du test Carba NP.
11	Exemple d'un bulletin d'analyse bactériologique des sujets vivants.

Liste des abréviations

%: Pourcentage.

°C: Degré Celsius.

µg: Micro gramme.

µl: Micro litre.

ADH: Arginine Dihydrolase.

AK: Amikacine.

AMC: Amoxicilline+ acide clavulanique.

AmpC: Céphalosporinase de classe C β -lactamase .

AMX: Amoxicilline.

AMY: Amygdaline.

API 20E: Analytical profile index 20^E (E: Entérobactéries).

ARA: Arabinose.

ATB: Antibiotique.

ATM: Aztréonam.

BLSE: β -lactamases à spectre étendu.

BN: Bouillon nutritif.

C1G: Céphalosporines de première génération.

C2G: Céphalosporines de deuxième génération.

C3G: Céphalosporines de troisième génération.

C4G: Céphalosporines de quatrième génération.

Carba NP: Carbapenemase Nordmann-Poirel.

CA-SFM: Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie.

CAZ: Ceftazidime.

CIP: Ciprofloxacine.

CIT: Citrate.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

cm: Centimètre.

CTX: Céfotaxime.

CTX-M: Céfotaximase-Munich.

DO: Densité optique.

EDTA: Éthylène diamine tétra-acétique.

FEP: Céfépime.

g: Gramme.

GEL: Gélatinase.

GLU: Glucose.

GN: Gélose nutritive.

H₂S: Hydrogène Sulfuré.

I: Intermédiaire.

IMP: Imipénème.

IND: Indole.

INO: Inositol.

LDC: Lysine Décarboxylase.

MAN: Mannitol.

MBL: Métallo β-lactamase.

MC: Mac Conkey.

MEL: Mélibiose.

MH: Muller-Hinton.

Min: Minute.

MRP: Méropénème.

Nit 1: Réactif Nitrate réductase 1.

Nit 2: Réactif Nitrate réductase 2.

NaOH: Hydroxyde de sodium

ODC: Ornithine Décarboxylase.

OMS: Organisation Mondiale de la santé.

ONPG: Ortho-Nitrophényl-β-D-Galactopyranoside.

OXA: Oxacillinase.

pH: Potentiel d'Hydrogène.

R: Résistant.

RHA: Rhamnose.

S: Sensible.

SAC: Saccharose.

SOR: Sorbitol.

TDA: Tryptophane Désaminase.

URE: Uréase.

VP: Voges-Proskauer.

VP1: Réactif Voges-Proskauer1.

VP2: Réactif Voges-Proskauer2.

ZnSO₄: Sulfate de zinc

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 01: Synthèse Bibliographique	
1. Généralités sur la viande de poulet	4
1.1. Définition	4
1.2. Qualité nutritionnelle	4
1.3. Qualité microbiologique	5
1.4. Microbiote intestinal du poulet	6
1.5. Intérêt de l'élevage avicole	7
2. Principaux caractères des entérobactéries	8
3. Contamination de viande de poulet par les entérobactéries	11
4. Usage des bêta-lactamines dans l'élevage de poulets	11
4.1. Généralités sur les bêta-lactamines	11
4.2. Usage des β -lactamines en élevage de poulet	12
4.3. Mode d'administration	13
4.4. Effets de l'usage des β -lactamines en aviculture	13
4.5. Situation en Algérie	14
4.6. Facteurs impliqués dans l'augmentation de la résistance	15
5. Résistance des entérobactéries aux β-lactamines	16
5.1. Résistance naturelle	16
5.2. Résistance acquise	16

5.3. Mécanismes de résistance	16
5.4. Classification des β -lactamases	17
5.5. Description des β -lactamases les plus couramment rencontrées chez les entérobactéries	18

Chapitre 02 : Matériel et méthodes

1.Objectifs	20
2.Cadre de l'étude	20
3.Matériel	20
3.1.Matériel biologique	20
3.2.Matériel non biologique	20
4.Méthodes	21
4.1.Questionnaire	23
4.2. Echantillonnage	24
4.3.Isolément sélectif des ERC3G et ERC	25
4.3.1.Pré-enrichissement	26
4.3.2.Isolément sélectif	26
4.3.3. Purification	30
4.3.4.Conservation des isolats	30
5.Identification biochimique des isolats	31
6.Caractérisation des phénotypes de résistance aux β-lactamines	34
6.1.Recherche de BLSE	34
6.1.1.Test de synergie	35
6.1.2.Test du rapprochement des disques	38
6.1.3.Test de confirmation(technique du double disque)	38
6.2. Recherche d'une carbapénèmase	39
6.2.1. Screening des souches suspectes productrices de CP	39
6.2.2. Test Carbapénèmase Nordmann-Poirel (Carba NP)	40

Chapitre 03: Résultats et discussion

1. Résultats du questionnaire	44
1.1. Expérience de travail du vétérinaire	44
1.2. Raisons de l'utilisation des bêta-lactamines en élevage de poulet	44

1.3. Types de bêta-lactamines les plus utilisés	45
1.4. Mode d'administration en élevage de poulet	45
1.5. Utilisation correcte des bêta-lactamines par les éleveurs et échec thérapeutique	46
1.6. Antibiotiques de recours dans le cas d'échec thérapeutique	46
1.7. L'échec thérapeutique est dû à la résistance aux antibiotiques	46
1.8. D'autres raisons d'échec thérapeutique	47
1.9. Solutions proposées pour résoudre le problème	48
2. Isolement et identification des ERC3G et des ERC	48
2.1. Examen macroscopique	48
2.2. Examen microscopique	52
2.3. Identification biochimique des isolats	52
3. Caractérisation des phénotypes de résistance aux β-lactamines	59
3.1. Détection des β-lactamases à spectre élargi	59
3.1.1. Test de synergie	59
3.1.2. Test de rapprochement des disques	60
3.1.3. Test du double disque	61
3.1.4. Répartition des E-BLSE selon les espèces	64
3.2. Recherche des carbapénèmases	65
3.2.1. Résistance des souches aux carbapénèmes	65
3.2.2. Test Carba NP	66
Conclusion et perspectives	69
Références bibliographiques	72
Annexes	

Introduction

Introduction

L'augmentation significative de la population mondiale a stimulé une consommation accrue de produits avicoles, qui doivent répondre à la demande croissante tout en préservant leur qualité et leur sécurité (**Richie et al., 2020**). L'élevage de volailles, y compris de poulets, revêt une importance primordiale, notamment dans les pays en voie de développement (**Abreu et al., 2023**) comme l'Algérie. Actuellement, la production de viande de poulet occupe une place prédominante sur le marché et connaît une croissance constante, à des fins économiques et nutritionnelles (**Íris et al., 2022**). Toutefois, dans le secteur avicole, les systèmes d'élevage sont souvent pratiqués de manière intensive, avec une utilisation irrationnelle d'antibiotiques (**Nhung et al., 2017**), y compris les bêta-lactamines qui sont largement prescrites dans les pratiques humaines et vétérinaires. En fait, cette pratique peut contribuer à la résistance aux antibiotiques d'origine animale (**Van et al., 2015**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), certaines espèces d'*Enterobacteriaceae* figurent comme les pathogènes les plus significativement résistants. Les entérobactéries, bien qu'elles soient membres du microbiote intestinal du poulet, leurs formes pathogènes compromettent l'efficacité des mesures de prévention et de traitement et sont de plus en plus répandues. Ces souches présentent un taux élevé de résistance, en particulier, les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (ERC3G) et les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC) (**WHO, 2017; Giulia et al., 2020**). En effet, les ERC3G représentent une menace significative pour la santé humaine en raison de leur capacité à transmettre rapidement des déterminants de résistance au sein et entre les populations bactériennes (**Gupta et al., 2019**). Ainsi, les ERC sont classées comme un groupe critique et représentent un risque de développer des infections difficiles à traiter à l'échelle mondiale (**WHO, 2017 ; Gordon et al., 2020**).

Les céphalosporines de troisième génération (C3G) sont des bêta-lactamines d'importance critique pour la santé humaine. La résistance aux C3G, en particulier au céfotaxime, s'est avérée être un marqueur substitutif approprié pour identifier les souches d'Entérobactéries produisant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) ou des AmpC. Fait important, la prévalence des souches d'ERC3G dans la viande de poulet est significativement élevée (**Kaesbohrer et al., 2019; Randall et al., 2017**).

Parmi les différents bêta-lactames, les carbapénèmes présentent le spectre d'activité le plus large et la plus grande efficacité contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Ils sont souvent considérés comme des antibiotiques de dernier recours dans le traitement des infections graves. A l'opposé, les ERC représentent une menace majeure pour la santé car elles sont généralement résistantes à la plupart des bêta-lactamines. Elles sont désormais responsables d'échecs thérapeutiques tant dans les infections acquises en communauté que nosocomiales. Par conséquent, il existe un besoin urgent de détection rapide et précise des isolats résistants aux carbapénèmes (**Gautier *et al.*, 2018 ; Elshamy & Aboshanab, 2020**)

Par ailleurs, le rôle de la viande de poulet en tant que source potentielle des entérobactéries multirésistantes en médecine humaine et en élevage a été démontré dans plusieurs pays (**Charity *et al.*, 2023 ; Wu *et al.*, 2018**). Ce problème est devenu une préoccupation majeure pour la santé publique (**Rousham *et al.*, 2018**). Face à cette situation alarmante, ce sujet fait l'objet depuis des décennies d'une attention particulière et d'une importance accrue.

Dans ce contexte, la présente étude s'articule sur quatre volets :

- le premier volet concerne un questionnaire adressé aux vétérinaires praticiens, sur l'utilisation des bêta-lactamines et l'antibiorésistance en élevage de poulets dans la région de Tébessa;
- le deuxième volet porte sur l'isolement sélectif des ERC3G et des ERC à partir de viande de poulet;
- le troisième volet se concentre sur l'identification biochimique des isolats obtenus;
- le quatrième volet traite de la caractérisation phénotypique de la résistance aux β -lactamines, par recherche de la production de deux types de bêta-lactamases : les BLSE et les carbapénémases.

Pour répondre à ces objectifs, le manuscrit est divisé en trois chapitres :

- **chapitre 01** : une synthèse bibliographique dans laquelle on aborde des généralités concernant la viande de poulet, ensuite les principaux caractères des entérobactéries et les sources de contamination de la viande de poulet par ces bactéries, les bêta-lactamines et

leur usage en élevage de poulet et enfin les mécanismes de résistance des entérobactéries à ces antibiotiques;

- **chapitre 02** : dans lequel, on détaille le matériel et les méthodes mis en place pour mener cette étude;
- **chapitre 03** : il fournit une présentation détaillée des résultats issus de notre recherche ainsi qu'une discussion approfondie découlant de ces résultats.

A la fin du manuscrit, on met l'accent sur l'intérêt des résultats obtenus de l'étude et on propose des perspectives pour de recherches futures dans ce domaine.

Chapitre 01

Synthèse

Bibliographique

1. Généralités sur la viande de poulet

1.1. Définition

La viande de poulet, considérée comme une variété de viande de volaille à chair blanche. Le terme volaille, dérivé du latin "volatilia" signifiant "oiseaux", englobe les parties comestibles de diverses espèces aviaires domestiquées telles que le poulet, le canard, la dinde, l'oie, la pintade et la caille japonaise (**Kumar et al., 2022**). La viande de poulet se réfère principalement aux carcasses entières, aux parties de carcasse ou à la viande désossée de l'espèce *Gallus gallus domesticus* (**Bhaisare et al., 2014**).

1.2. Qualité nutritionnelle

La viande de poulet présente un avantageux profil nutritionnel et est communément reconnue comme une source abondante et facilement accessible des nutriments essentiels (**Tableau 1**). En effet, elle se distingue par :

- sa richesse en protéines de haute qualité, comparée à d'autres sources de protéines animales;
- sa faible teneur en matières grasses totales et saturées;
- sa densité calorique modérée;
- son importance en tant que source de divers minéraux tels que le calcium, le magnésium, le phosphore et le sodium;
- sa richesse en vitamines essentielles, notamment la niacine (vitamine B3), ainsi qu'une teneur plus élevée en vitamines A et B6 par rapport à d'autres types de viande (**Kralik et al., 2018**).
- sa digestibilité élevée due à une teneur en collagène réduite (**Marangoni et al., 2015**).

Tableau 01 : Composition moyenne des viandes de poulet (en %) (**Badraoui, 2016**).

Viande	Eau	Protéines	Lipides	Minéraux	Collagène
Escalope sans peau	73-75	23-24	0.9-2	0.8-1.2	0.8-1.2
Cuisse sans peau	71-74	18-20	3-5	0.8-01	05-08
Peau	35-40	9-12	26.9	0.4-0.6	47-56

1.3. Qualité microbiologique**➤ Microflore d'altération**

L'altération de la viande de poulet engendre des changements des qualités organoleptiques affectant sa couleur, sa saveur, sa structure et son odeur. Des techniques d'emballage en atmosphère modifiée ou sous vide, une mauvaise hygiène et des conditions de stockage peuvent accélérer considérablement la prolifération des communautés bactériennes (**Li et al., 2020**). Cette altération se manifeste par :

- putréfaction superficielle : due aux moisissures comme *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Thamnidium*, *Rotrichum*, *Penicillium* et *Mucor*, ainsi des bacilles Gram négatif tels que *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* ..ect.
- puanteur d'os : due notamment aux entérobactéries et des *Pseudomonas*.
- putréfaction profonde : due aux bactéries anaérobies telles que *Clostridium perfringens*, *Clostridium histolyticum*, *Clostridium sporogenes* et *Clostridium oedematiens* (**Salifou et al., 2013**).

➤ Microflore pathogène

La principale préoccupation en matière de santé publique est la présence de pathogènes zoonotiques humains (**Kim et al., 2019**), principalement :

- *Campylobacter* : dont 60 à 80 % des cas de campylobactériose dans le monde peuvent être attribués au réservoir aviaire (**Reich et al., 2018**).
- *Salmonella enterica* non typhoïdique : qui fait partie du microbiote intestinal des poulets et elle joue un rôle important dans l'infection humaine (**Abdi et al., 2017**).
- *Listeria monocytogenes* : qui se trouve dans l'environnement et chez les animaux, elle peut contaminer les surfaces au cours la chaîne de production (**Ristori et al., 2014**).
- *Escherichia coli* : parmi les pathovars de *E. coli* ; *E.coli* entérohémorragiques ou EHEC qui sont responsables d'infections d'origine alimentaire allant d'une diarrhée bénigne à des formes plus graves comme des diarrhées hémorragiques pouvant évoluer vers des atteintes rénales sévères (**Anses, 2024**).

1.4. Microbiote intestinal du poulet

Le microbiote intestinal est une communauté microbienne complexe présente dans le tractus intestinal chez chaque individu aviaire. Il exerce une influence significative sur la santé, la croissance, la physiologie intestinale et la résistance aux infections tout au long de la vie de l’animal (Clavijo & Vives Flórez, 2018). Ce microbiote est caractérisé par une grande abondance et une diversité des microorganismes, en particulier dans le gros intestin et le caecum (Figure 01) (Broom, 2018).

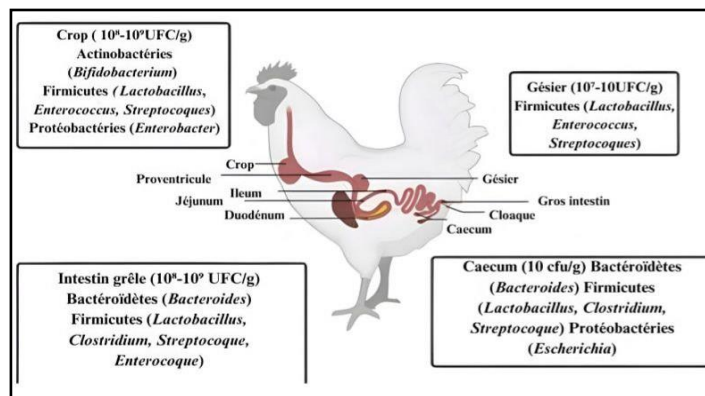


Figure 01 : Anatomie et principales populations bactériennes dans les différentes parties du tube digestif des poulets (Ribeiro et al., 2023).

Le dynamique la microflore du poulet, qu'elle soit liée à des altérations ou à des agents pathogènes, et la chaîne de production avicole est étroitement liée dès le jour de l’éclosion jusqu'à sa consommation. La chaîne de production de poulet (Figure 02) a été optimisée à chaque étape pour réduire les opportunités d'entrée des microorganismes zoonotiques dans la chaîne alimentaire (Marmion et al., 2021).

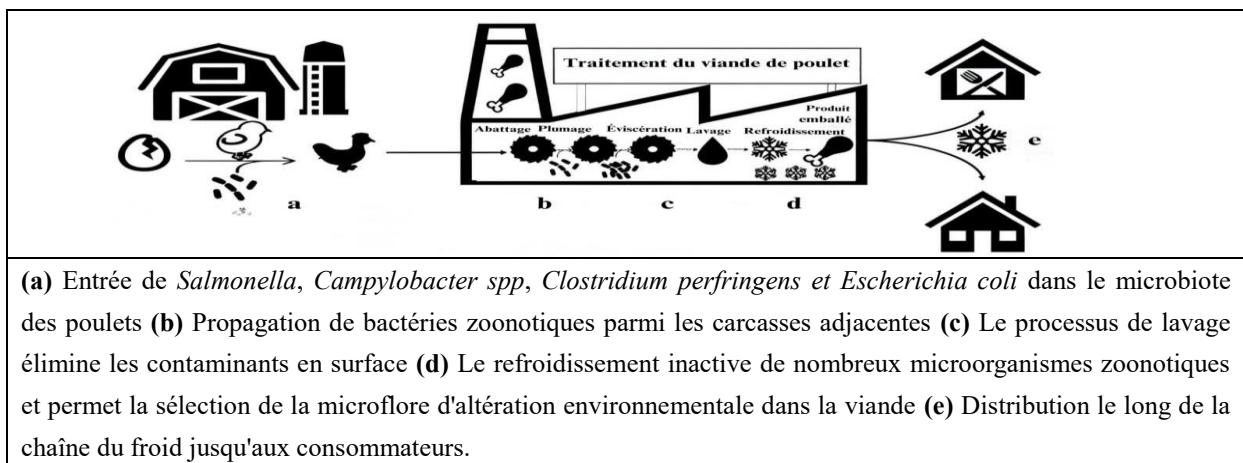


Figure 02 : Un aperçu de la production de viande de volaille indiquant l'impact des principales étapes de traitement sur le destin des bactéries dans le microbiome aviaire (Marmion et al., 2021).

1.5. Intérêt de l'élevage avicole

➤ Dans le monde

L'élevage avicole figure parmi les méthodes d'élevage animal les plus efficaces, garantissant la sécurité alimentaire à une part importante de la population mondiale (**Kralik et al., 2018**). Grâce à l'adoption de techniques modernes intensives, la production mondiale a atteint 133,4 millions de tonnes en 2020, avec une croissance continue chaque année (**Gržinić et al., 2023**) et une augmentation de 1,32 % en 2021, et des projections indiquant des taux légèrement inférieurs de 0,73 % pour 2022 (**FAO, 2022**). La consommation mondiale de viande de poulet est également en augmentation (**Figure 03**).

Selon **Mahmoudi (2019)**, l'aviculture suscite un intérêt en raison de sa contribution :

- à la sécurité alimentaire (approvisionnement régulier des marchés en produits avicoles);
- au développement économique (création de l'emploi, des revenus et de la richesse);
- à la stabilité et l'équitable sociale pour l'éleveur et sa famille (bon revenu).

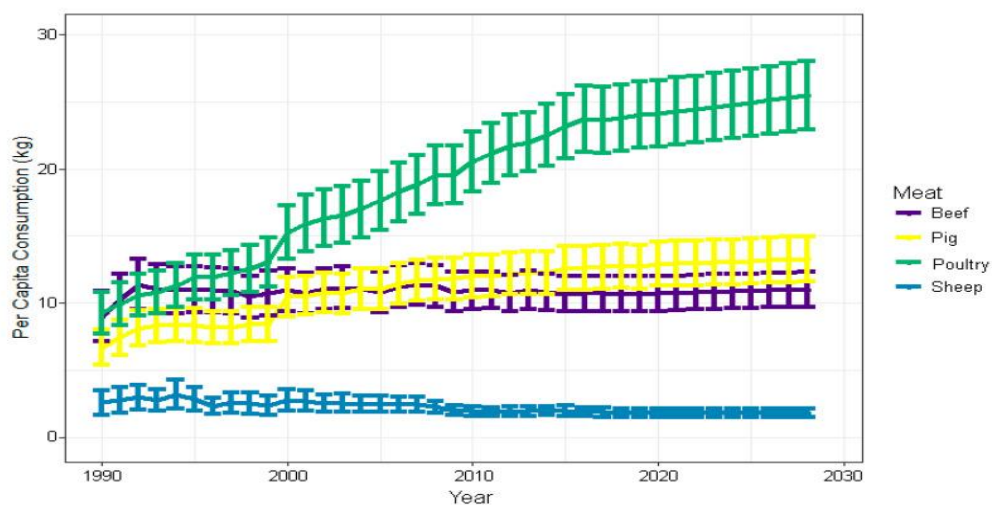


Figure 03 : Tendances prévues de la consommation mondiale de viande par habitant (en kg) de 1990 à 2028 (OECD, 2020).

➤ En Algérie

Le secteur avicole en Algérie se divise principalement en deux :

- l'aviculture moderne intensive : elle repose sur l'utilisation de souches hybrides sélectionnées et opère dans un cadre industriel;
- l'aviculture traditionnelle extensive (biologique, en plein air et à faible impact) : elle est principalement pratiquée dans de petites exploitations (**Kirouani, 2015**).

Les données officielles recueillies par les services du ministère de l'Agriculture en Algérie indiquent que les élevages ordinaires (serre, bâtiment en dur) représentent jusqu'à 75 % des élevages alors que les élevages industriels (complexe avicole) représentent à peine 25 % des élevages du pays. Ce qui démontre le caractère encore traditionnel de l'élevage avicole en Algérie.

Malheureusement, le secteur avicole algérien souffre énormément de la faiblesse de la productivité des élevages, de la dépendance structurelle des matières premières importées, la fragilité économique et technologique ainsi que des taux de mortalité plus élevés (**Semmar, 2021**).

2. Principaux caractères des entérobactéries

a) Caractères généraux

Les *Enterobacteriaceae* sont une famille de bactéries à Gram négatif, elles appartiennent à l'ordre des Enterobacterales, au phylum des Protéobactéries et à la classe des Gammaprotéobactéries. Elles sont des bactéries anaérobies facultatives, catalase positives, oxydase négatives et capables de réduire les nitrates en nitrites.

Les membres des *Enterobacteriaceae* sont substantiellement hétérogènes en termes écologiques et de gamme d'hôtes ; certains sont des agents pathogènes humains, animaux ou végétaux. Comme leur nom l'indique, ces microorganismes sont des habitants communs de l'intestin. De plus, les *Enterobacteriaceae* se trouvent dans le sol, l'eau et la végétation. Ces bactéries sont souvent présentes dans les aliments crus ou même transformés. Certains membres des *Enterobacteriaceae* causent l'altération des aliments et d'autres sont responsables de maladies d'origine alimentaire (**Yousef et al., 2022**).

b) Caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique, sous forme de bâtonnets ou des coccobacilles, mesurant généralement entre 2 et 4 μm de longueur et entre 0,4 et 0,6 μm de largeur. Elles peuvent être mobiles grâce à une ciliature péritriche ou immobiles. Certaines entérobactéries peuvent être capsulées, comme *Klebsiella*. La plupart des espèces pathogènes pour l'humain possèdent des fimbriae ou pili communs qui sont des facteurs d'adhésion (**Murray et al., 2020**).

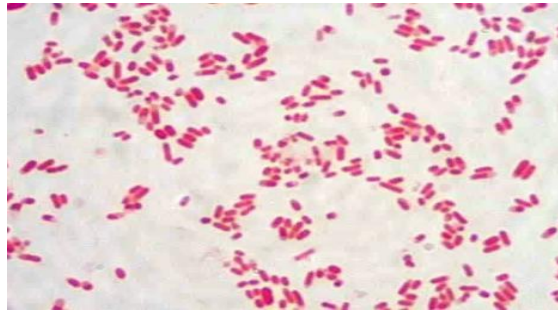


Figure 04 : Observation microscopique après coloration de Gram d'isolat de *E. coli*
(EFSA, 2008)

c) Caractères cultureux

Les entérobactéries sont généralement cultivées sur des milieux de culture ordinaires tels que la gélose ordinaire. Elles sont également cultivées sur des milieux sélectifs, conçus pour favoriser la croissance de certaines entérobactéries et inhiber la croissance d'autres bactéries, comme la gélose de Mac Conkey (Prescott *et al.*, 2018).

On distingue 5 types de colonies sur les différents milieux de culture :

- colonies S (smooth) : arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides;
- colonies R (rugueuses) : sèches à contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales);
- colonies M (muqueuses) : grosses colonies ± confluentes (*Klebsiella spp*);
- colonies envahissantes (en nappe) : formation d'un tapis uniforme (*Proteus*);
- colonies naines : elles s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques (Szalo *et al.*, 2006).

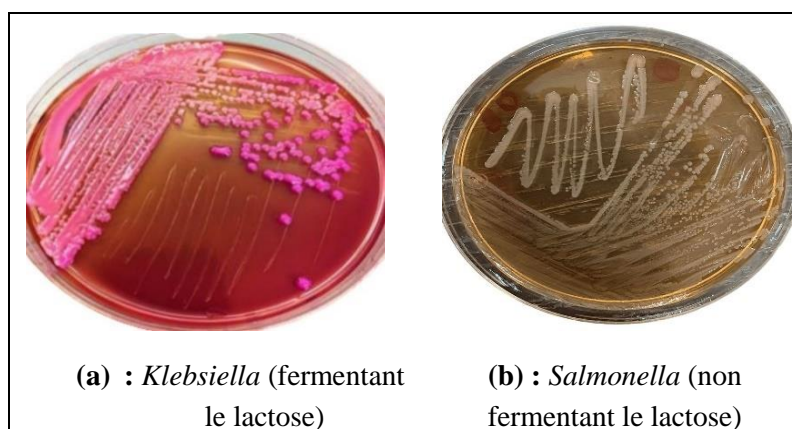


Figure 05 : Aspect macroscopique de certaines entérobactéries sur gélose Mac Conkey
(Hassan, 2019 ; Debbagh *et al.*, 2023)

d) Caractères biochimiques

L'identification des entérobactéries et leur classification en genres et espèces reposent principalement sur les caractères biochimiques (**Tableau 02**) qui déterminent leur profil métabolique (métabolisme protéique, la fermentation des sucres, la capacité à utiliser le citrate, la présence d'enzymes, la production d'hydrogène sulfuré, et la formation de gaz) (**Goro, 2021**).

Tableau 02: Caractères biochimiques de quelques Entérobactéries (**Murray et al., 2020**)

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Morganella</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
OPNG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+	+
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	-	+	-
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
H₂S	-	+/-	-	-	-	-	-	+/-	+	-	+

ONPG: Orthonitrophénol-bêta-galactosidase; **VP:** Voges Proskauer ; **H₂S:** Sulfure d'hydrogène.

TDA: Tryptophane désaminase

e) Pouvoir pathogène:

En pathologie humaine, les entérobactéries sont divisées en :

- pathogènes spécifiques : elles ne se trouvent pas à l'état commensal et leur présence dans les milieux extérieurs est seulement transitoire; les maladies qu'elles causent résultent d'un manque d'hygiène, et la contamination se produit soit par contact direct, soit par l'intermédiaire d'un vecteur (alimentaire ou animal); il s'agit de *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia* (**Annexe 01**);

- pathogènes opportunistes : qui peuvent provenir de la flore digestive commensale; les infections qu'elles peuvent causer peuvent avoir soit une origine endogène, expliquée par leur commensalité, soit une origine exogène (**Goro, 2021**). Certains de ces pathogènes sont responsables d'infections nosocomiales, il s'agit principalement de *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis* et *Morganella morganii*.

3. Contamination de viande de poulet par les entérobactéries

Elle peut être due :

- aux conditions d'hygiène déficientes lors de l'abattage, des étapes de traitement ultérieures telles que l'échaudage, le plumage et le désossage et la découpe (**Zerabruk et al., 2019**);
- à la libération du contenu intestinal lors de l'éviscération ce qui entraîne la contamination de la carcasse de poulet (**Baylis et al., 2011**);
- à la contamination croisée directe ou indirecte de viande de poulet avec d'autres carcasses par l'abattage d'un grand nombre des volailles dans une chaîne d'abattoirs utilisant le même équipement et les mêmes outils (**Wang, 2019**);
- à l'environnement de l'abattoir, ainsi qu'à la contamination hydrique par l'eau utilisée lors des différentes étapes du processus du traitement (**Cegar et al., 2022**).

4. Usage des bêta-lactamines dans l'élevage de poulets

4.1. Généralités sur les bêta-lactamines

Les β -lactamines sont caractérisées par la présence d'un anneau bêta-lactame dans leur structure. Elles sont classées en fonction de leur structure de noyau en différentes sous-classes (**Annexe 02**) dont les principales sont : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes (**De Angelis et al., 2020**) (**Figure 06**).

Les β -lactamines sont largement utilisées en médecine humaine et vétérinaire contre divers microorganismes (**Jung et al., 2023**). Leur préférence découle de leur efficacité clinique avérée, leur sécurité (**Prescott, 2013**), leur large spectre antibactérien, leur activité bactéricide lente et dépendante du temps et le vaste choix de molécules disponibles dans cette famille (**Pandey et Cascella, 2019**).

Les bêta-lactamines agissent par liaison aux transpeptidases connues sous le nom de PBPs (protéines de liaison à la pénicilline), cela inhibe la formation des liaisons peptidiques entre les tétrapeptides qui assurent la liaison transversale des chaînes de glycanes, essentielle à la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, ce qui entraîne la lyse des bactéries (Uddin *et al.*, 2021).

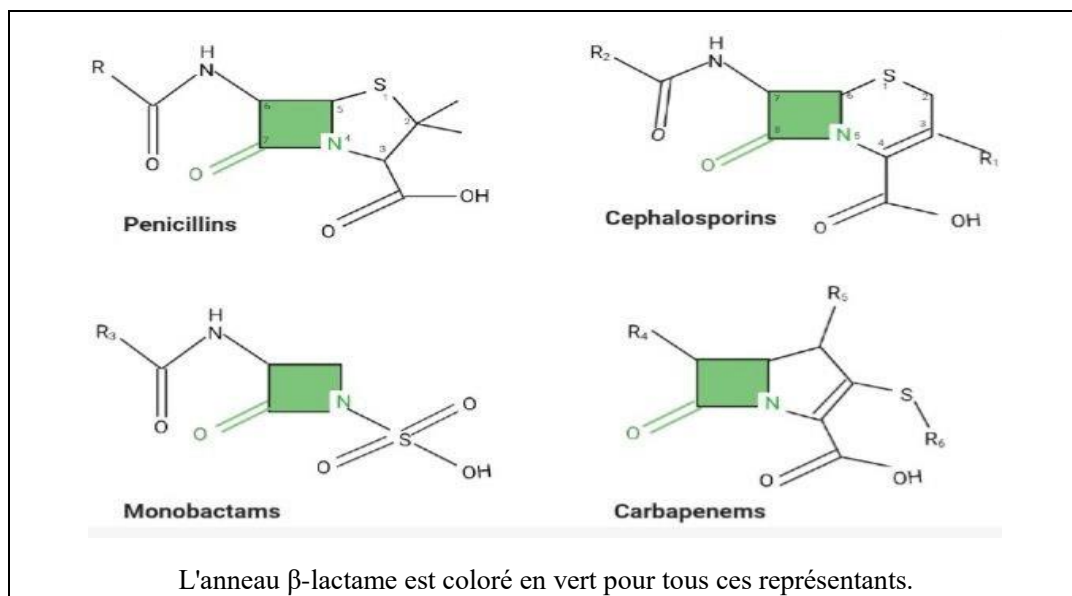


Figure 06 : Structure chimique des principales β-lactamines (Vrancianu *et al.*, 2020).

4.2. Usage des β-lactamines en élevage de poulet

Les β-lactamines sont utilisées en aviculture à différentes fins, notamment :

- **thérapeutiques** : pour le traitement des troupeaux lorsque la maladie est initialement détectée chez une petite proportion des poulets ; où ils (individuellement ou en petits groupes) reçoivent des doses élevées d'antibiotiques pendant des périodes relativement courtes;
- **prophylactiques** : pour le traitement prophylactique de l'ensemble du troupeau, y compris les poulets ne présentant aucun signe clinique de la maladie afin de prévenir la propagation d'une maladie donnée; les individus sont exposés à des doses modérées pendant des durées plus longues;
- **comme promoteurs de croissance** : afin d'augmenter le poids, où des antibiotiques sont administrés à doses subthérapeutiques (Besier, 2016).

4.3. Mode d'administration

Dans le contexte critique de la gestion des antibiotiques, il est primordial de choisir des schémas posologiques qui respectent les cinq principes fondamentaux : le bon médicament, au bon moment, à la bonne dose, pour la bonne durée et par la bonne voie (Gray *et al.*, 2021). La plupart des antibiotiques utilisés dans l'élevage avicole sont administrés par voie orale, mélangés à la nourriture ou à l'eau, qui est la plus efficace et la plus courante (Seo *et al.*, 2018). Cependant, dans le cas de maladie grave, l'administration parentérale, intraveineuse, topique peut être envisagée en alternative (Zhou *et al.*, 2020).

4.4. Effets de l'usage des β -lactamines en aviculture

L'utilisation d'antibiotiques dans la production avicole et d'élevage est favorable aux agriculteurs et à l'économie car elle a généralement amélioré efficacement et économiquement les performances avicoles (Apatha, 2009). Cependant, cet usage pourrait également avoir des effets néfastes à différents niveaux (Figure 09).

a) Effet sur la santé de l'animal

Un échec thérapeutique peut être due à de nombreuses causes possibles telles que le choix inapproprié d'antibiotique, les divergences entre l'efficacité *in vitro* et *in vivo*, ou les maladies non infectieuses mal diagnostiquées (Garcès, 2023).

b) Effets sur la santé humaine**➤ Effets associés aux résidus des antibiotiques**

Les résidus d'antibiotiques dans les produits aviaires peuvent être transmis à l'homme par la consommation de viande contaminée, entraînant plusieurs implications pathologiques majeures : directement en tant qu'initiateurs de réactions allergiques, d'éruptions cutanées, de dermatites, d'altération de la microflore intestinale, etc., indirectement en tant que cancérigènes, tératogènes, développement de résistances aux antibiotiques parmi les souches microbiennes; et conduisent souvent à la toxicité médicamenteuse (Mund *et al.*, 2017) Les résidus de β -lactamines telles que la pénicilline provoquent de graves réactions anaphylactiques (Baynes *et al.*, 2016).

➤ Effets associés à la dissémination de la résistance

- Difficultés croissantes dans le traitement efficace des infections humaines en raison de la résistance aviaire (une perte d'efficacité des antibiotiques).
- Prévalence de bactéries résistantes chez les poulets en élevage, compromettant la santé publique (Collignon, 2019).

c) Effets sur l'environnement

L'émergence et la dissémination de bactéries commensales portant des gènes de résistance sur des éléments génétiques mobiles peuvent conduire au transfert de ces gènes à des bactéries pathogènes dans l'environnement (Collignon, 2019).

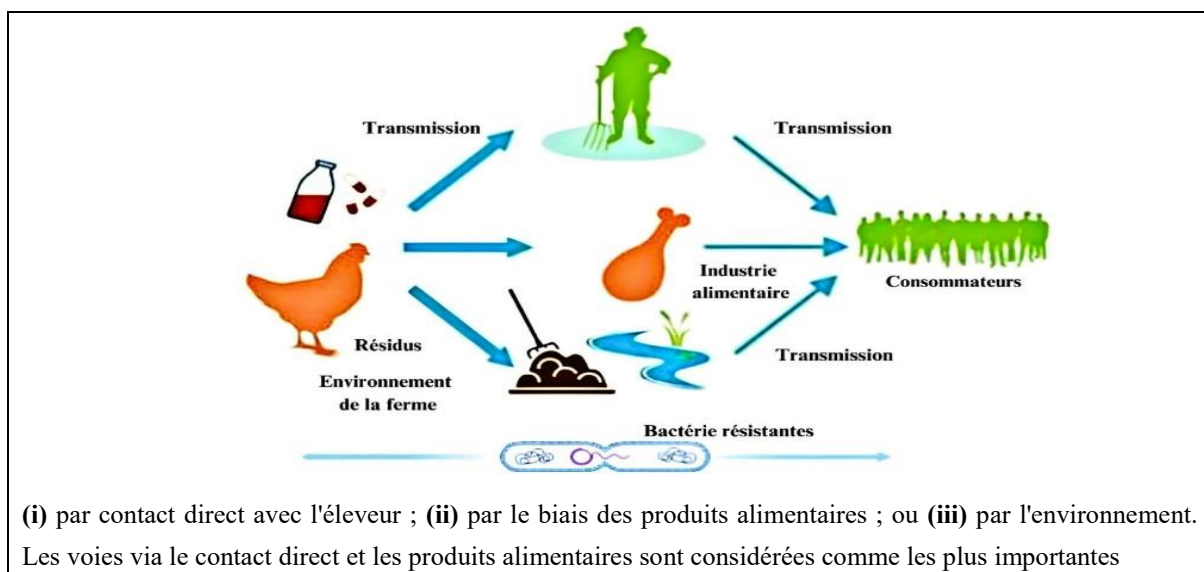


Figure 07: Transmission des bactéries résistantes des poulets aux humains (Magnusson, 2021)

4.5. Situation en Algérie

En raison de l'intensification de la production, l'utilisation d'antibiotiques est courante dans l'élevage avicole. Cette pratique vise à contrôler le niveau sanitaire et à garantir la qualité ainsi que la productivité des élevages. Cependant, un usage non réglementé de ces substances peut entraîner des effets tant pour la santé humaine et animale que pour l'environnement (Berghiche *et al.*, 2017).

L'Algérie a été citée parmi les pays dans le monde où le taux de consommation d'antibiotiques a été le plus élevé en 2015 (PNAS, 2018). La situation est encore plus préoccupante quant à la consommation des antibiotiques dans la filière avicole où l'utilisation de ces produits devrait doubler (Klein *et al.*, 2018).

La résistance aux antibiotiques est un problème de santé publique, étroitement lié avec l'usage des antibiotiques en aviculture. Durant les dernières décennies, elle a connu une augmentation remarquable, notamment celle des entérobactéries en médecine humaine et vétérinaire, selon les données publiées annuellement par le réseau Algérien de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques. En effet, plusieurs études dans ce contexte ont été publiées dans certaines régions du centre et de l'ouest Algérien (**Benameur *et al.*, 2018**). D'après ces recherches, une évolution importante de la résistance aux antibiotiques a été enregistrée dans des souches d'origine aviaire. La nature de cette résistance devient de plus en plus inquiétante avec une augmentation constante de la résistance aux antibiotiques du premier recours tels que les β -lactamines et les fluoroquinolones. La majorité des souches circulantes sont multi-résistantes et peuvent être sources d'impasses thérapeutiques.

4.6. Facteurs impliqués dans l'augmentation de la résistance

Dans l'élevage, la dissémination de la résistance bactérienne est influencée par de nombreux facteurs qui facilitent l'acquisition directe et indirecte de souches bactériennes résistantes ainsi que de leurs gènes de résistance (**Manyi-Loh *et al.*, 2018**), tels que :

- l'administration des doses excessives ou inappropriées des antibiotiques aux poulets (la durée du traitement et la dose quotidienne indéfinies) ;
- l'automédication : l'éleveur une fois confronté aux mêmes symptômes, traitera ses animaux avec les mêmes antibiotiques que ceux précédemment prescrits par le vétérinaire, ne faisant appel à ce dernier qu'en cas d'échec thérapeutique (**Sinaly, 2014**);
- la pression de sélection (due à l'emploi d'antibiotiques à large spectre) sur la flore bactérienne, augmentant ainsi l'avènement de bactéries multi-résistantes (**Manyi-Loh *et al.*, 2018**);
- l'environnement d'élevage : la contamination du sol par la litière de volaille peut induire une résistance chez les bactéries qui y habitent. Le transfert de bactéries résistantes de la ferme à l'environnement peut se produire par dispersion de fumier non traité et par les ventilateurs d'extraction (**Guo *et al.*, 2021**).
- l'intensification des pratiques agricoles et le système de gestion des déchets avicoles (**Manyi-Loh *et al.*, 2018**);

- la transmission via les vecteurs (la faune), l'eau, le sol, les plantes et les actions anthropologiques (Collignon, 2018).

5. Résistance des entérobactéries aux β -lactamines

5.1. Résistance naturelle

Elle est caractéristique de l'espèce et est déterminée par des modifications génétiques chromosomiques, ce qui la rend toujours transmissible verticalement à la descendance.

Les entérobactéries présentent une résistance naturelle aux pénicillines G et aux pénicillines M, et la plupart d'entre elles produisent naturellement diverses β -lactamases, les classant ainsi en sept groupes phénotypiques de résistance naturelle (Annexe 03) (Hernández *et al.*, 2017).

5.2. Résistance acquise

Cette résistance résulte de mutations génétiques ou de l'acquisition de gènes étrangers par le biais d'éléments génétiques mobiles tels que les plasmides et les transposons. La transmission de la résistance acquise peut être verticale et/ou horizontale, selon le mode de transfert des éléments génétiques entre les bactéries (Mhaya, 2019).

5.3. Mécanismes de résistance

Il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les entérobactéries peuvent surmonter les β -lactamines :

a) Modification des cibles moléculaires des β -lactamines

La modification du site actif des PBPs peut réduire l'affinité pour les β -lactamines (Drawz & Bonomo, 2010). Ce type de résistance est très rare chez les entérobactéries.

b) Diminution de l'expression des protéines de membrane externe

Les bêta-lactamines doivent soit diffuser, soit traverser directement les canaux porineux dans la membrane externe des parois cellulaires bactériennes. Certaines entérobactéries (comme *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*) présentent une résistance aux carbapénèmes basée sur la perte des Outer Membrane Proteins (OMP).

À noter que la perturbation de ces protéines seules n'est pas toujours suffisante pour produire le phénotype de résistance, et généralement ce mécanisme est trouvé en combinaison

avec l'expression de β -lactamases (Drawz & Bonomo, 2010).

c) Pompes d'efflux

Faisant partie soit d'un phénotype de résistance acquis soit intrinsèque, elles sont capables d'exporter une large gamme de substrats du périplasme vers l'environnement extérieur. À noter que l'efflux actif est souvent combiné à l'imperméabilité chez les entérobactéries (Vallée *et al.*, 2018).

d) Production d'enzymes inactivatrices appelées β -lactamases

Il s'agit du principal mécanisme de résistance des entérobactéries vis-à-vis des -lactamines. Il existe de nombreuses β -lactamases avec des structures et des spectres d'hydrolyse différents (Vallée *et al.*, 2018). Ces enzymes sont capables d'hydrolyser le pont β -lactame, des β -lactamines (Figure 08), site de fixation des PBPs (Usman Umar Zango, 2019). Les gènes des β -lactamases peuvent avoir un support génétique chromosomique ou extra-chromosomique.

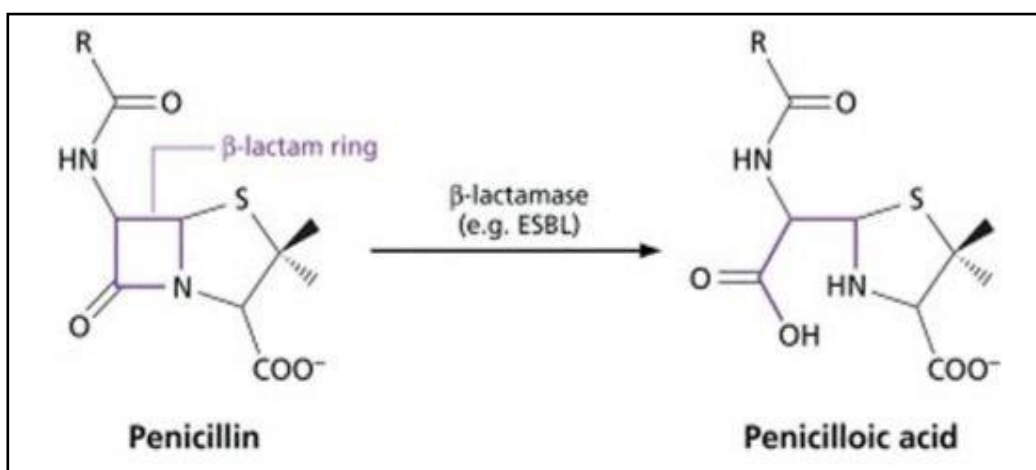


Figure 08 : Mécanisme d'hydrolyse de la pénicilline par une β -lactamase (Harris, 2015)

5.4. Classification des β -lactamases

Suite à l'utilisation massive des β -lactamines, des β -lactamases à large spectre (BLS), des β -lactamases à spectre tendu (BLSE), des céphalosporinases et des carbapénèmases ont émergé dans le monde et continuent à se diversifier (Mhaya, 2019).

La classification moléculaire d'Ambler, selon la structure primaire des différentes β -lactamases et la classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros tenant compte des substrats et du profil d'inhibition (Figure 09) sont les deux systèmes de classification les plus couramment utilisés pour les β -lactamases (Rijalin, 2024). La classification de Bush et

Jacoby répartit les β -lactamases en fonction de leur sensibilité à certains inhibiteurs, tels que l'acide clavulinique, l'EDTA et, plus récemment, de l'avibactam (Bush, 2018). Elle a un intérêt pratique car elle permet d'orienter en routine l'identification des β -lactamases à partir du phénotype de résistance aux β -lactamines des souches qui les produisent.

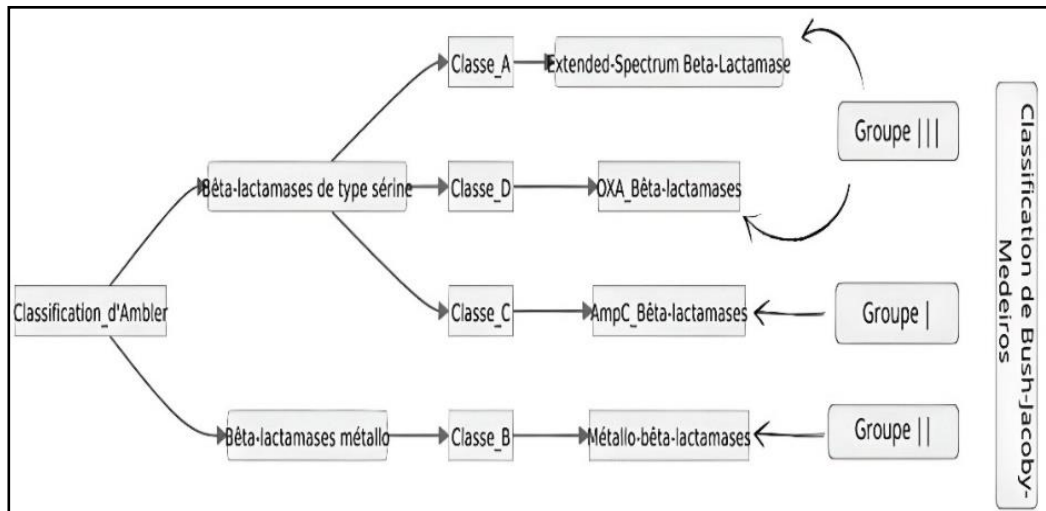


Figure 09 : Classification des β -lactamases (Rijalin, 2024).

5.5. Description des β -lactamases les plus couramment rencontrées chez les entérobactéries

➤ β -lactamases du groupe 1 (classe C de Ambler)

Il s'agit principalement des céphalosporinases chromosomiques spécifiques des bacilles à Gram négatif. Ces enzymes ont une préférence pour l'hydrolyse des céphalosporines de première génération (C1G) telles que la céfalotine, conduisant à une résistance à toutes les β -lactamines, sauf les carbapénèmes, lorsqu'elles sont produites en grande quantité. Les céphalosporinases AmpC, retrouvées chez plusieurs entérobactéries (*E. coli*, *Enterobacter spp.*), sont des exemples de ces enzymes.

Depuis 1989, des céphalosporinases plasmidiques ont été identifiées, principalement chez *K. pneumoniae*, avec des homologies avec des enzymes chromosomiques. Les gènes chromosomiques codant pour les enzymes de type AmpC ont été transloqués sur des plasmides, favorisant leur diffusion chez d'autres espèces bactériennes (Bonomo, 2018; Wu, 2019).

➤ β -lactamases du groupe 2 (classe A de Ambler, sauf 2d, 2de et 2df)

Elles sont hétérogènes et subdivisées en 8 classes (2a, 2b, 2be, 2br, 2c, 2d, 2e et 2f). La classe 2b comprend les BLS qui hydrolysent préférentiellement les pénicillines mais affectent

aussi les céphalosporines de 1ère et 2ème génération. Les enzymes TEM-1, TEM-2 et SHV-1 sont les plus communes de cette classe.

La classe 2be est réservée aux BLSE qui inactivent les pénicillines, les C3G et les monobactames. Les BLSE de type CTX-M sont particulièrement pandémiques. La classe 2bf comprend des BLSE qui hydrolysent également les carbapénèmes, telles que les enzymes KPC (*Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase).

Les β -lactamases de la classe 2d sont des oxacillinases (OXA) généralement peu sensibles à l'acide clavulanique. Les oxacillinases de type 2df, comme OXA-48, confèrent une résistance à bas niveau aux carbapénèmes (**Bonomo, 2018; Wu, 2019**).

➤ **β -lactamases du groupe 3 (classe B de Ambler)**

Elles sont également connues sous le nom de métalloenzymes, elles sont caractérisées par un site catalytique contenant un ion métallique Zinc (Zn^{2+}), contrairement aux autres β -lactamases qui ont une sérine OH. La chélation du Zn^{2+} par l'EDTA inhibe l'activité de ces enzymes.

Les métalloenzymes sont des carbapénémases à large spectre, capables d'hydrolyser non seulement l'imipénème, mais aussi les pénicillines et les céphalosporines. Les métalloenzymes acquises sont regroupées dans la sous-classe 3a. Parmi celles-ci, les enzymes de type IMP et de type VIM sont couramment retrouvées chez de nombreuses espèces d'entérobactéries (**Bonomo, 2018; Wu, 2019**).

Chapitre 02
Matériel et méthodes

1. Objectifs

Cette étude visait à réaliser un questionnaire sur l'utilisation des bêta-lactamines en élevage des poulets dans l'est algérien, plus précisément à Tébessa, et à répondre à ces objectifs :

- ✓ isolement d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération et aux carbapénèmes dans la viande de poulet commercialisée dans la Wilaya de Tébessa;
- ✓ identification biochimique des isolats obtenus;
- ✓ caractérisation phénotypique de certains mécanismes enzymatiques de résistance aux β -lactamines : la production des BLSE et des carbapénèmases (CP).

2. Cadre d'étude

Cette recherche a été réalisée au laboratoire de microbiologie du Département de biologie appliquée de la Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi-Tébessa, sur une période de trois mois, allant du 12 février au 27 mai 2024.

3. Matériel

3.1. Matériel biologique

31 échantillons de blanc de poulet.

3.2. Matériel non biologique

- a) **Appareils, instruments, consommables, verreries, réactifs et colorants (Annexe 04).**
- b) **Milieux de culture (Annexe 05)**
 - Bouillon Tryptone-sel
 - Gélose Mac Conkey (MC)
 - Gélose Nutritive (GN)
 - Gélose Mueller-Hinton (MH)
- c) **Produits**
 - Galerie API 20E BioMérieux, France.

- Antibiotiques en poudre : Céfotaxime (Ayataxim ®) et Imipénème (Samipenem ®).
- Disques d'antibiotiques :
 - ✓ Amoxicilline/acide clavulanique (20-10µg)
 - ✓ Ceftazidime (30 µg)
 - ✓ Céfotaxime (30µg)
 - ✓ Céfépime (30µg)
 - ✓ Imipénème (10µg)
 - ✓ Méropénème (10µg)
- Rouge de phénol
- Sulfate de zinc (ZnSO₄)
- NaOH
- Tris HCl

4. Méthodes

Notre travail pratique combine, d'une part, une enquête menée au moyen d'un questionnaire destiné aux vétérinaires de la wilaya de Tébessa et, d'autre part, une méthodologie présentant les protocoles utilisés pour atteindre nos objectifs.

La démarche des manipulations réalisées au niveau du laboratoire, depuis le prélèvement des échantillons jusqu'aux tests phénotypiques de détection des BLSE et des CP est présentée dans l'organigramme ci-dessous (**Figure 10**).

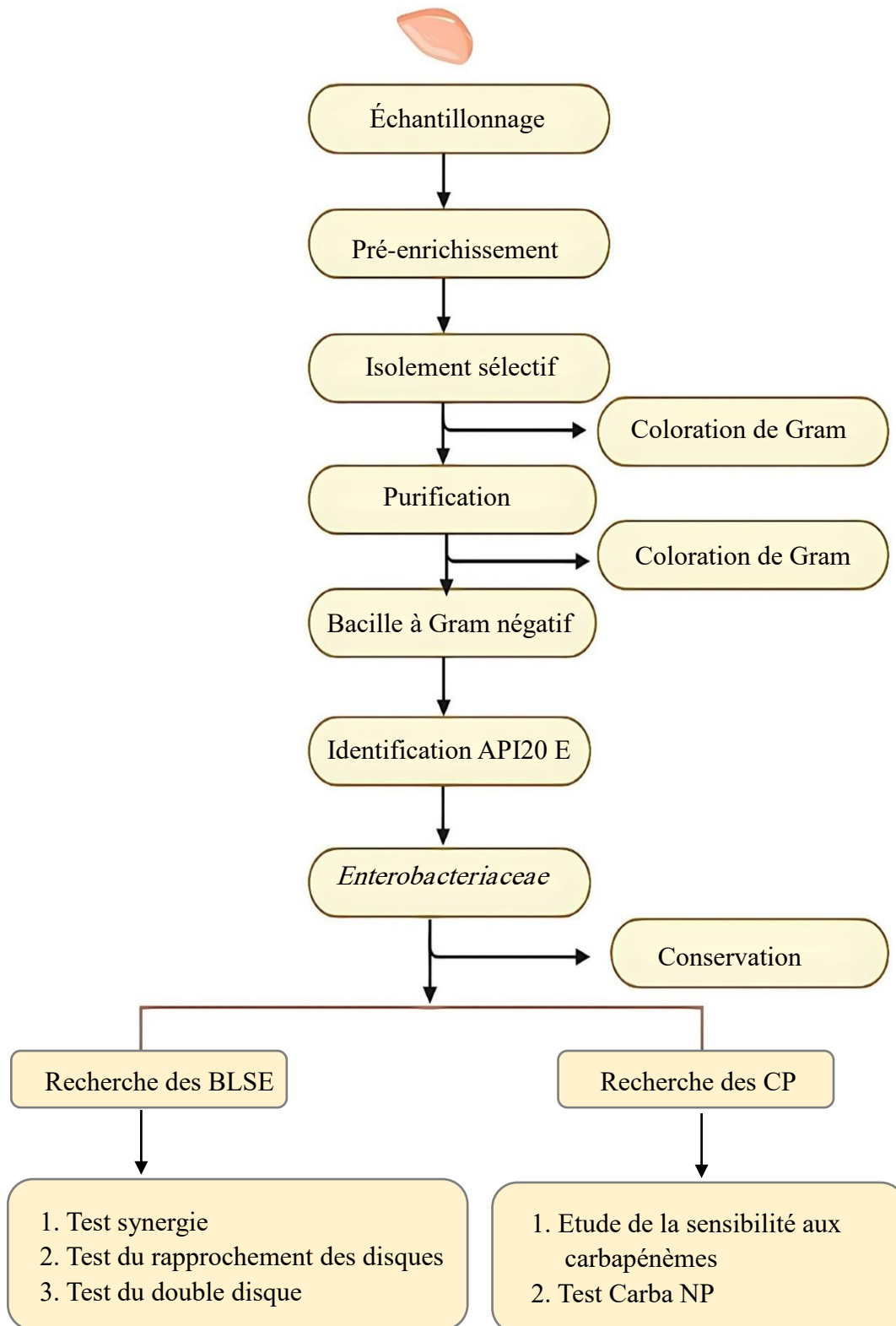


Figure 10: Schéma récapitulatif du protocole de travail

4.1. Questionnaire

Un questionnaire structuré (**Annexe 06**) de 11 questions a été établi pour investiguer les connaissances et les attitudes concernant l'utilisation des bêta-lactamines et l'antibiorésistance en élevage de poulets dans la région de Tébessa. Pour collecter les données sur terrain, le contenu du questionnaire a été présenté et discuté de manière participative avec des vétérinaires spécialisés en aviculture, d'une part, et d'autres intervenants. Les questions abordaient les points suivants :

- nombre d'années de travail du vétérinaire pour connaître son expérience professionnelle;
- raisons de l'utilisation des bêta-lactamines dans l'élevage avicole;
- modes d'administration des bêta-lactamines;
- le mode le plus utilisé par les éleveurs;
- utilisation correcte des bêta-lactamines par les éleveurs;
- causes d'échec thérapeutique et antibiotiques de recours;
- solutions proposées pour résoudre ces problèmes.

➤ **Participants interrogés**

On considère qu'un vétérinaire est capable de comprendre pleinement la situation de l'éleveur face au problème de la résistance aux antibiotiques, grâce aux compétences acquises dans son domaine de spécialisation et à l'expérience accumulée (**OIE, 2015**). Une meilleure compréhension de leurs croyances et de leurs connaissances concernant l'utilisation des antimicrobiens et la résistance aux antimicrobiens pourrait fournir un aperçu de leurs comportements de prescription et aider à interpréter nos résultats.

➤ **Diffusion du questionnaire**

Certains questionnaires ont été distribués directement aux vétérinaires, tandis que d'autres ont été envoyés via des vétérinaires intermédiaires et des fournisseurs de produits vétérinaires.

➤ **Collecte et traitement des données**

Grâce à la participation proactive des vétérinaires, on a pu récupérer 25 questionnaires dûment remplis. Ces données ont été ensuite présentées sous forme de tableaux pour faciliter leur analyse et leur interprétation.

4.2. Echantillonnage

Pendant la période allant du 9 mars au 28 avril 2024, 31 échantillons de blanc de poulet ont été prélevés de manière aléatoire dans quatre communes de la wilaya de Tébessa : Tébessa, Hammamet, Cheria et Bir Dhab (**Annexe 07**).

La méthodologie d'échantillonnage est décrite comme suit (**Figure 11**) :

▪ Prélèvement des échantillons

L'échantillonneur s'est comporté comme un consommateur ordinaire et il a acheté un blanc de poulet.

▪ Conditionnement

Chaque échantillon a été soigneusement placé dans un sac Ziploc® stérile unitaire et hermétiquement fermé. Un étiquetage précis a été effectué sur chaque sac, indiquant le numéro de l'échantillon, la date et le lieu de prélèvement.

▪ Transport au laboratoire

Les échantillons ont été rapidement acheminés au laboratoire dans une glacière, en veillant à maintenir une température entre +2°C et +8°C, jusqu'à l'arrivée au laboratoire.

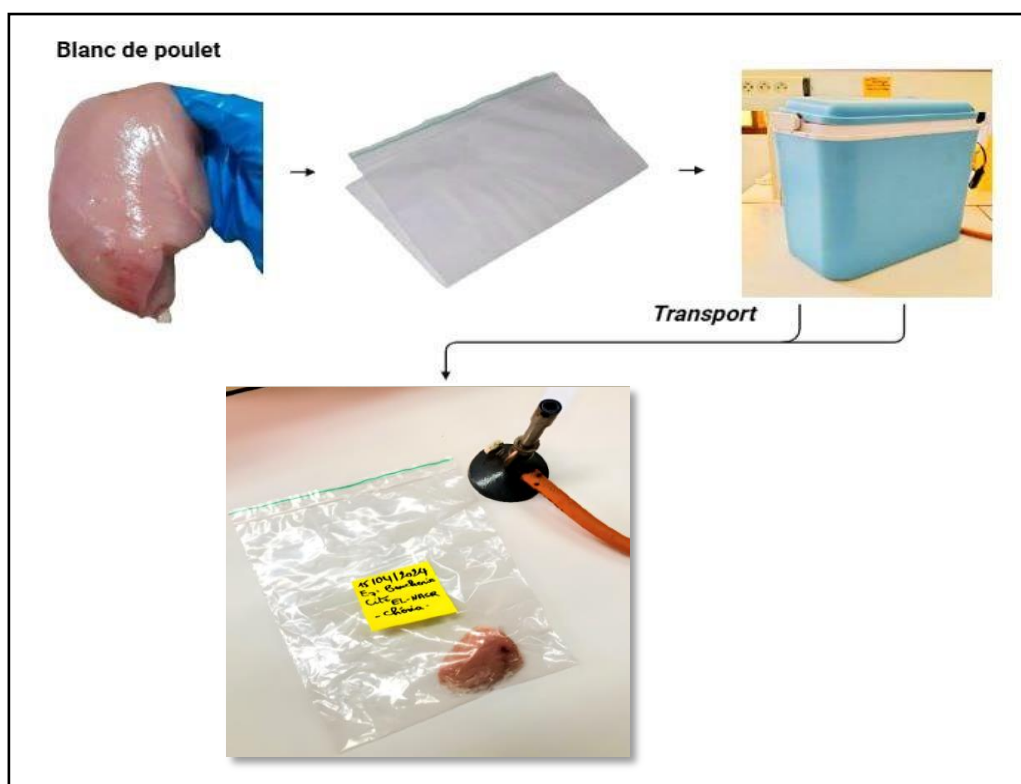


Figure 11: Prélèvement et transport des échantillons (Photos personnelles, 2024)

4.3. Isolement sélectif des ERC3G et ERC

Le protocole a été établi conformément à la méthode de référence ANSES/LMV/18/01 version 2 pour l'analyse en sécurité sanitaire des aliments, intitulée "Isolement d'*Escherichia coli* producteurs de BLSE, AmpC ou carbapénèmases dans les viandes fraîches".

Cette méthode repose sur l'utilisation de milieux sélectifs additionnés d'antibiotiques, permettant à la fois l'isolement et la sélection des entérobactéries productrices de BLSE, des AmpC ou de CP. Le protocole inclut cinq étapes (Figure 12) :

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

Remarque : le protocole a été adapté selon les moyens et les conditions disponibles.

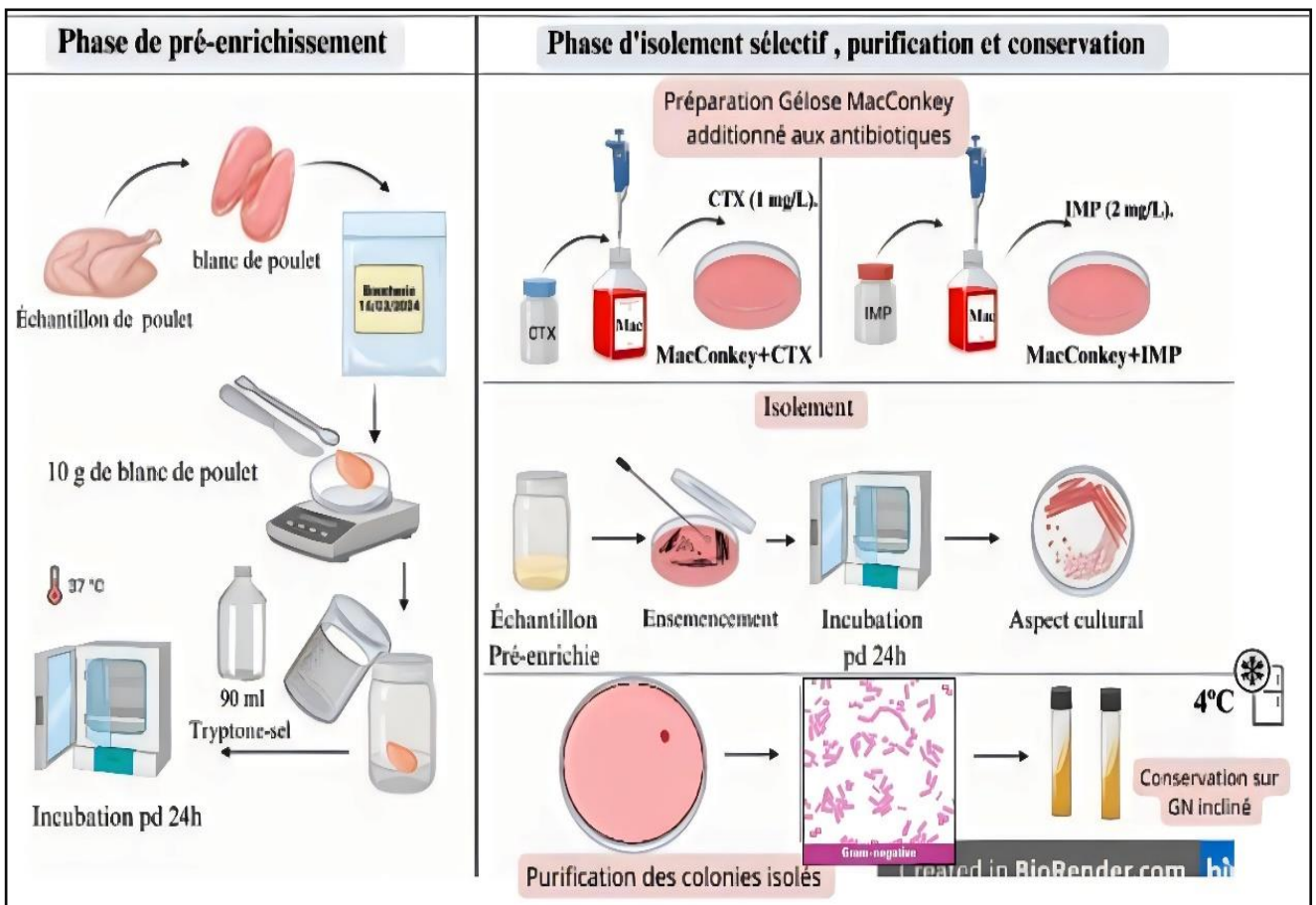


Figure 12: Schéma récapitulatif du protocole d'isolement sélectif

4.3.1. Pré-enrichissement (Figure 13) :

- Peser 10g de blanc de poulet prélevés en profondeur de la viande.
- Transférer cette quantité dans un bocal stérile et rajouter 90 ml de Tryptone-sel.
- Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

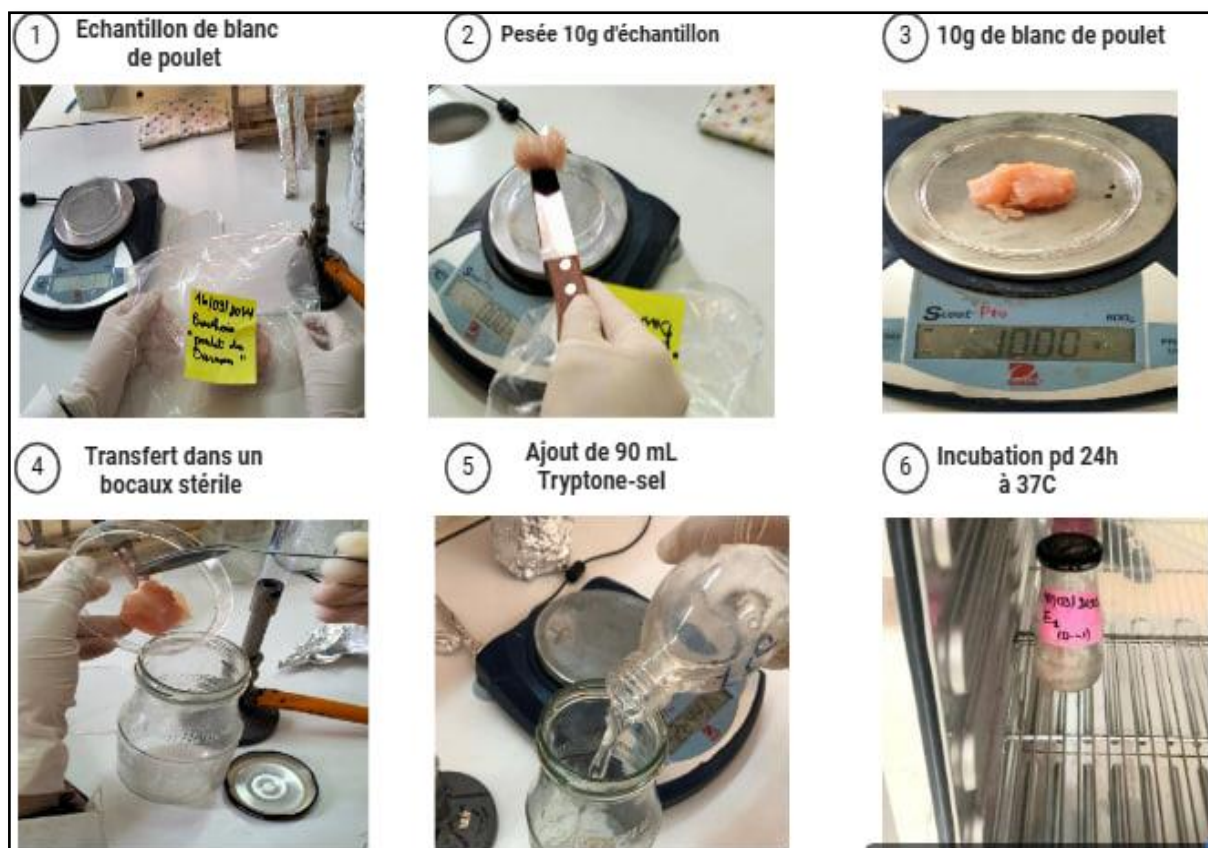


Figure 13 : Etape du pré- enrichissement (photos personnelles, 2024)

4.3.2. Isolement sélectif

➤ Principe

Un isolement sélectif est réalisé sur un milieu de culture contenant un antibiotique, qui inhibe la croissance des bactéries sensibles à l'antibiotique, tandis que celles résistantes peuvent se développer. Cela permet d'isoler et d'identifier les bactéries résistantes à l'antibiotique en question.

Le milieu utilisé dans notre travail est le milieu Mac Conkey additionné de céfotaxime (CTX) ou d'imipénème (IMP). Le céfotaxime a été utilisé à une concentration finale de 1mg/l pour la sélection des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (ERC3G). L'imipénème a été utilisé à une concentration finale de 2 mg/l pour la sélection des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC).

➤ **Technique**

a) Préparation des solutions d'antibiotiques (Figure 14).

- Répartir 10 ml d'eau distillée stérile dans deux tubes à essai, en les étiquetant respectivement "CTX" et "IMP".
- Peser 20 mg de l'antibiotique céfotaxime en poudre (Ayataxim ®) et 20 mg de l'antibiotique imipénème (Samipenem ®) sur un petit morceau de papier aluminium.
- Transférer la quantité pesée de chaque antibiotique dans son tube respectif.
- Mélanger soigneusement chaque solution.
- Conserver les solutions à 4°C.
- Les solutions doivent être utilisées extemporanément.



Figure 14: Préparation des solutions d'antibiotiques (photos personnelles, 2024)

b) Préparation de la gélose Mac Conkey

La gélose Mac Conkey (MC) est un milieu de culture sélectif et discriminant utilisé pour isoler et différencier les bactéries à Gram négatif, notamment les membres de la famille des entérobactéries, en évaluant leur capacité à fermenter le lactose. Les bactéries lactose-fermentantes seront colorées d'un rose caractéristique, tandis que les non-fermentantes donneront des colonies transparentes (Cahaya *et al.*, 2021).

➤ **Technique (Figure 15)**

- Dissoudre 51,55 g de milieu déshydraté dans 1000 ml d'eau distillée.
- Porter lentement le mélange à ébullition sous agitation constante jusqu'à dissolution complète.
- Répartir le milieu dans des flacons de 100 ml.
- Stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 121 °C.
- Laisser les flacons sur une surface froide.

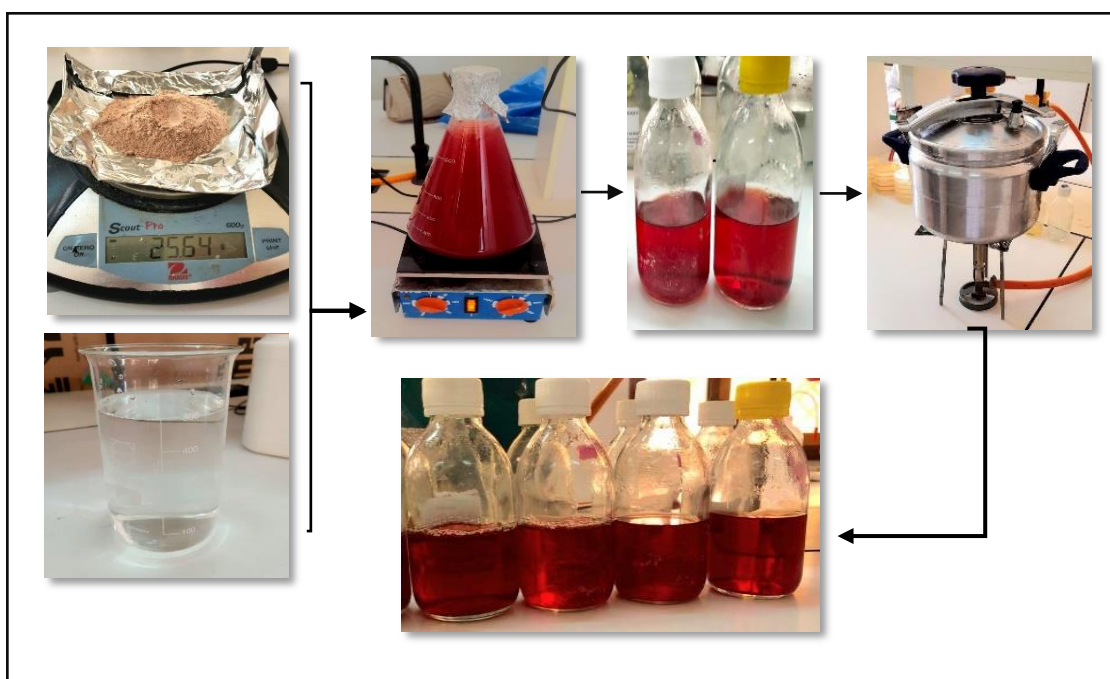


Figure 15: Préparation de la gélose Mac Conkey (photos personnelles, 2024)

c) Ajout d'antibiotiques à la gélose Mac Conkey (Figure 16)

- Ajouter 50 µl de la solution de céfotaxime préalablement préparée, à 100 ml de gélose Mac Conkey pour avoir le milieu MC + CTX à une concentration finale de 1 mg/L.
- Ajouter 100 µl de la solution d'imipénème préalablement préparée, à 100 ml de gélose Mac Conkey pour avoir le milieu MC + IMP à une concentration finale de 2 mg/L.
- Mélanger soigneusement le milieu pour assurer une distribution uniforme des antibiotiques.
- Couler les milieux dans des boîtes de Pétri sur lesquelles est noté le nom de l'antibiotique correspondant (CTX ou IMP) et laisser solidifier.

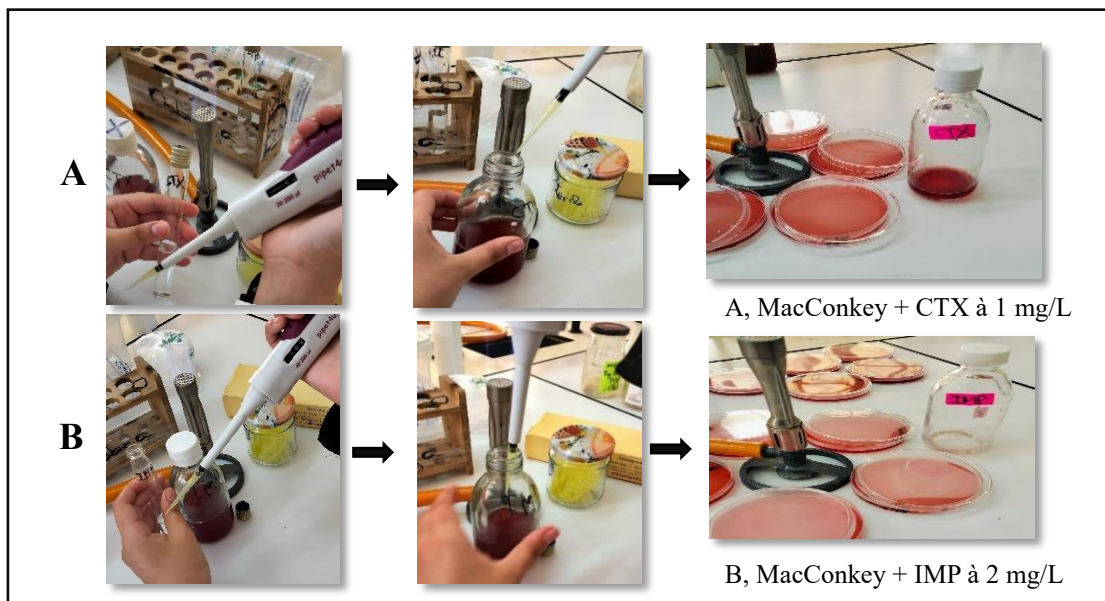


Figure 16 : Ajout d'antibiotiques à la gélose Mac Conkey (**photos personnelles, 2024**)

d) Isolement d'ERC3G (Figure 17)

- Agiter doucement l'échantillon pré-enrichi la veille.
- Prélever une öse de 10 µl et étaler sur un seul cadran d'une boîte de MC + 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 bien isolées.
- Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

e) Isolement d'ERC (Figure 17)

Il est réalisé sur MC + IMP (2 mg/L) de manière similaire que l'isolement précédent.

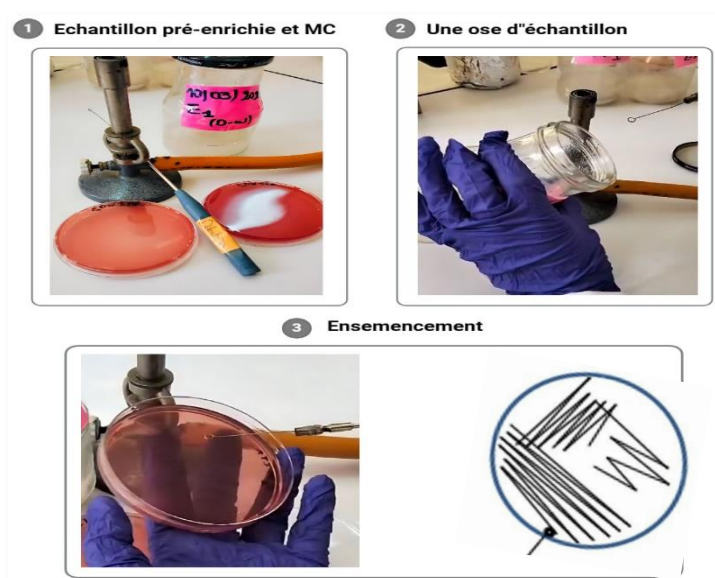


Figure 17: Isolement sélectif (**photos personnelles, 2024**)

4.3.3. Purification

La purification se fait en poursuivant le repiquage sur le même milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pure présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement (Boutaiba, 2023).

Les colonies présentant des aspects culturels des entérobactéries et donnant des coccobacilles ou des bacilles à Gram négatif ont été purifiées par repiquage sur gélose Mac Conkey (Figure 18).

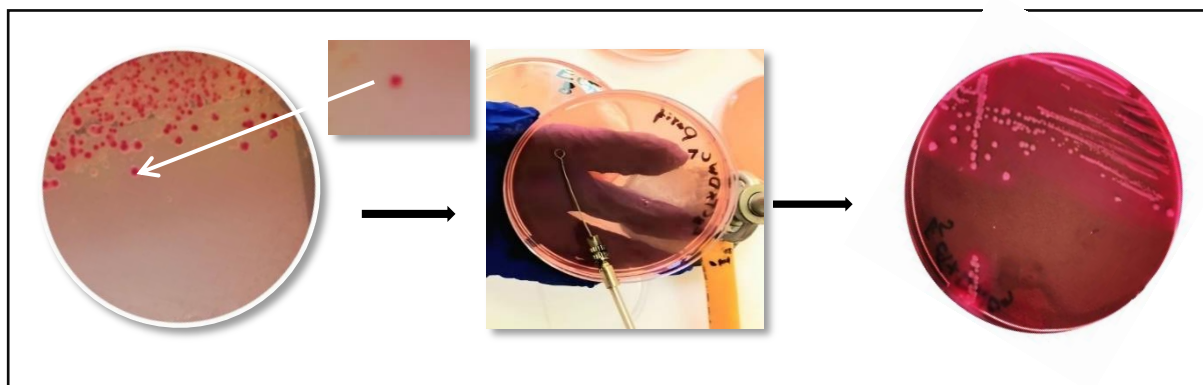


Figure 18: Purification sur gélose Mac Conkey (photos personnelles, 2024)

4.3.4. Conservation des isolats

La conservation à basse température (2~4 °C) sur milieu gélosé est une méthode facile à utiliser et est souvent appliquée pour la conservation des souches microbienne sur une courte période (Lei, 2017).

Les isolats purs sont ensemencés sur gélose nutritive (GN) inclinée par des stries serrées et incubées à 37°C pendant 24h, puis conservées à 4°C (Figure 19).

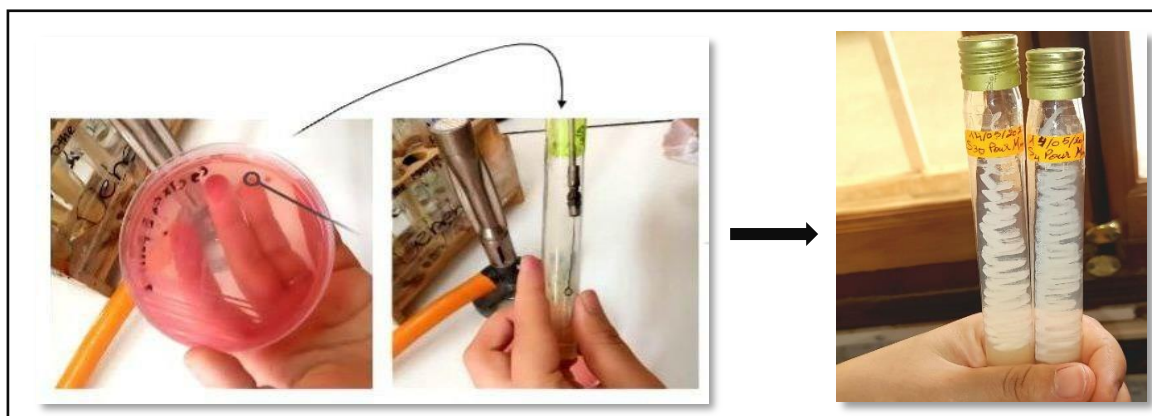


Figure 19 : Conservation des isolats (photos personnelles, 2024)

5. Identification biochimique des isolats

L'identification des isolats est effectuée à l'aide de la galerie miniaturisée API 20E. Il s'agit d'un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données (**Bio Mérieux**).

➤ Principe

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Bio Mérieux**).

➤ Technique

a) Repiquage des isolats

L'identification doit être réalisée sur une culture jeune et pure, car la qualité des résultats obtenus dépend largement de la fraîcheur et de la pureté des isolats testés. Les isolats conservés ont été repiqués sur GN et incubés pendant 18 à 24h à 37 °C (**Figure 20**).

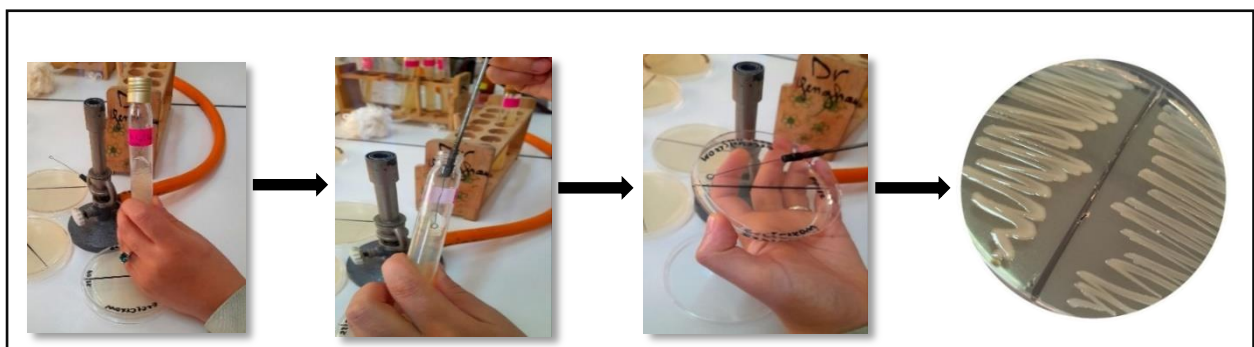


Figure 20 : Repiquage des isolats (photos personnelles, 2024)

b) Préparation de la galerie (Figure 21)

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

- Inscrire la référence de l'isolat sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation (**Bio Mérieux**).

c) Préparation de l'inoculum (Figure 21)

- A l'aide d'une anse de platine, prélever 2 ou trois colonies bien isolées sur GN.
- Émulsionner soigneusement dans 5 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir une suspension bactérienne homogène.
- Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

d) Inoculation de la galerie (Figure 21)

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette Pasteur (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :
- pour les tests : **CIT**, **VP**, **GEL** remplir tube et cupule;
- pour les tests : **ADH**, **LDC**, **ODC**, **H₂S**, **URE**, créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de vaseline stérile;
- pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

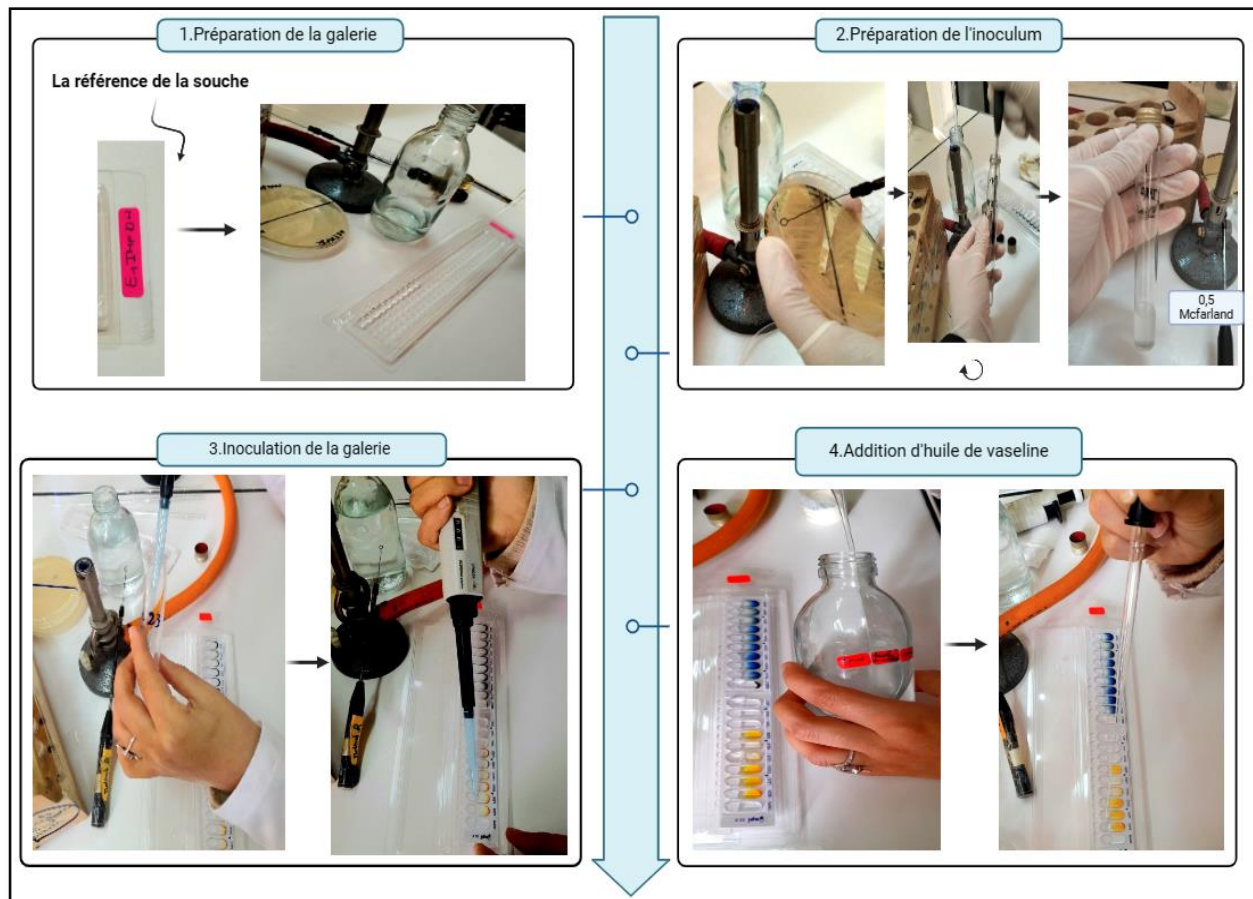


Figure 21: Protocole de la réalisation d'API20E (photos personnelles, 2024)

e) Lecture

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (Annexe 08).

- Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à trois, réincuber la galerie 24 heures (plus ou moins 2 heures) de plus sans rajouter les réactifs.
- Si trois tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

Remarque : le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.

Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

Test VP : ajouter une goutte des réactifs VP1 et VP2. Attendre 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

Test NO₂ : ajouter 2 gouttes de réactifs NIT1 et NIT2 dans le tube GLU. Attendre 2 à 3 mn. Une coloration rouge indique une réaction positive. Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote, ajouter 2 à 3 mg de la poudre de Zn dans la cupule GLU. Après 5 minutes, Un tube resté jaune indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule est rose-rouge, la réaction est négative, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zinc.

Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacs, attendre 2 minutes. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

f) Interprétation

L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification (feuille Excel).

6. Caractérisation des phénotypes de résistance aux β -lactamines

6.1 . Recherche de BLSE

La recherche de BLSE a été faite par trois tests :

- ✓ Test de synergie
- ✓ Test de rapprochement des disques
- ✓ Test du double disque.

Ces tests sont basés sur le fait que les BLSE peuvent être inhibées par des inhibiteurs de β -lactamases tels que l'acide clavulanique (**Gebremichael *et al.*, 2020**). Ils sont réalisés selon le l'organigramme ci-après (**Figure 22**).

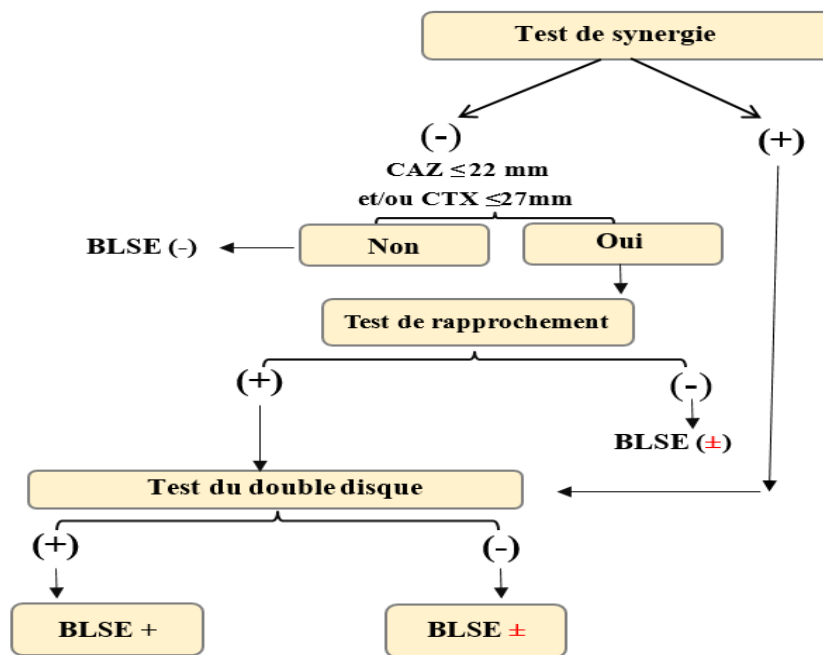


Figure 22: Organigramme des tests de détection des BLSE

6.1.1. Test de synergie

➤ Principe

Le test consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de bêta-lactamase (amoxicilline + acide clavulanique) et un disque de C3G (ceftazidime et céfotaxime) et un disque de céphalosporine de quatrième génération (céfépime). Cette image est dite « bouchon de champagne » (CA-SFM, 2023; CLSI, 2023).

➤ Technique

Le test est réalisé selon la méthode de l'antibiogramme standard.

a) Préparation du milieu MH

La gélose MH doit être coulée à une épaisseur de $4 \text{ mm} \pm 0.5 \text{ mm}$ (approximativement 25 ml pour une boîte de 90 mm de diamètre).

b) Préparation de l'inoculum

Une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture jeune de 18-24 heures sur GN en prélevant au moins 03 colonies, en les émulsionnant dans 05 ml d'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne. Son opacité doit être équivalente à une DO de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm soit 0,5 Mac Farland. Cela correspond à une culture pure à peine confluyente de 10^6 à 10^8 UFC/ml. Ajuster l'opacité de la suspension par comparaison à

l'étalon Mac Farland 0,5 préparé (**Figure 23**) (CA-SFM, 2023) (**Annexe 09**).



Figure 23: Comparaison de la suspension à l'étalon Mac Farland 0,5
(**Photo personnelle, 2024**)

c) Ensemencement de la gélose (Figure 24)

L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et égoutter-le sur les parois du tube pour éliminer l'excès de liquide.
- Ensemencer la boîte de MH en stries serrées, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60°C afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Les boîtes sont laissées sur pailleasse pour séchage.

d) Dépôt des disques et incubation des boîtes (Figure 24)

Les disques sont déposés soigneusement à l'aide d'une pince stérile à plat sans déplacement (car la diffusion des antibiotiques est très rapide) et appuyés légèrement, à la surface du milieu MH séché.

Déposer un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10µg) au centre de la gélose. À une distance de 2,5 cm du centre du disque d'AMC, placer un disque de ceftazidime (CAZ 30µg), céfotaxime (CTX 30µg) et céfépime (FEP 30µg) (**Figure 25**). Les boîtes sont incubées pendant 18-24 h à 37° C (couvercle en haut).

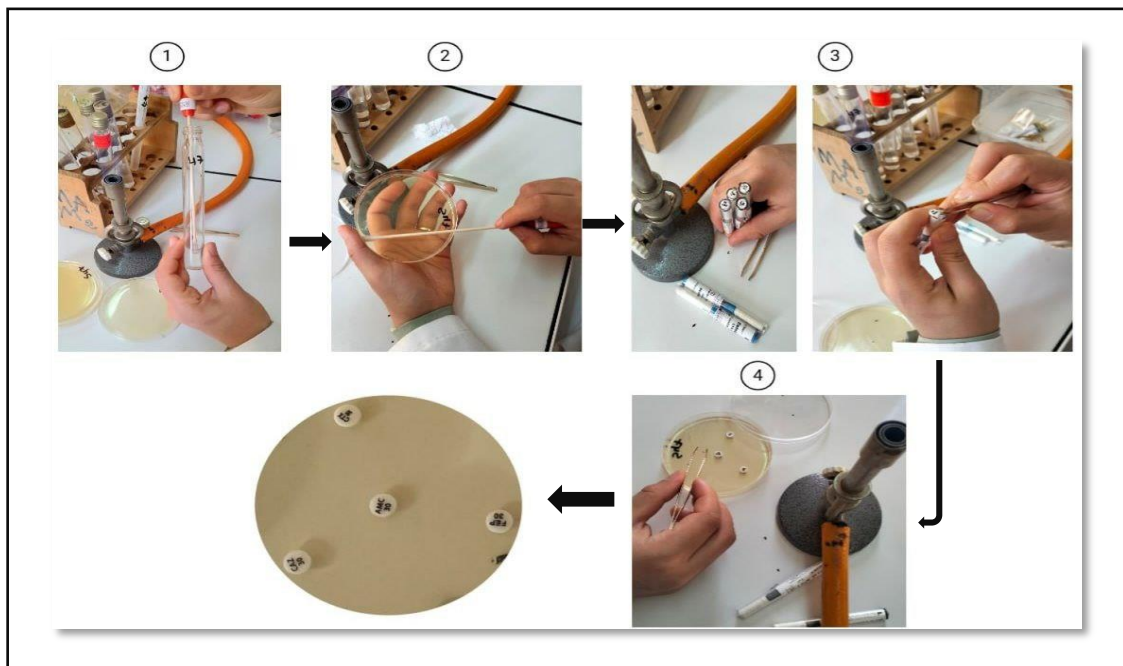


Figure 24: Protocole du test de synergie (photos personnelles, 2024)

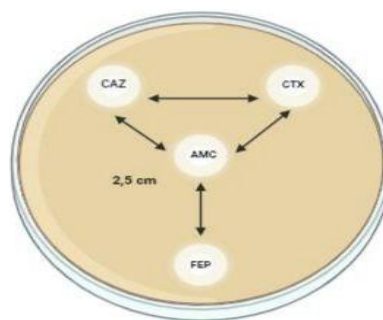


Figure 25: Disposition des disques pour le test de synergie

➤ Lecture

La présence d’image de synergie dite « bouchon de champagne » est caractéristique de la présence de BLSE (Figure 26).

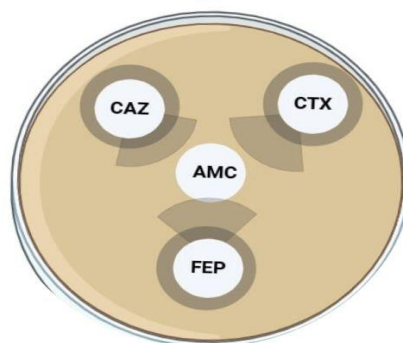


Figure 26 : Image de synergie en bouchon de champagne

6.1.2. Test du rapprochement des disques**➤ Principe**

Lorsqu'un second mécanisme de résistance est susceptible de masquer la présence de l'image de BLSE, la méthode de rapprochement peut être employée pour détecter cette image cachée. Cette méthode consiste à rapprocher des disques des C3G du disque contenant de l'acide clavulanique (Abid *et al.*, 2007).

➤ Technique

L'inoculum est préparé et ensemencé de la même manière que pour le test de synergie. Un disque AMC est placé au centre de la gélose MH. Deux disques de CTX sont placés à différentes distances du disque AMC, mesurées centre à centre (15 mm et 20 mm).

➤ Lecture

La restauration de l'activité de la C3G utilisée (CTX) est indiquée par l'apparition d'une image de synergie entre les disques de C3G et AMC.

6.1.3. Test de confirmation (Technique du double disque)**➤ Principe**

Ce test consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G, précédé par l'application d'un disque contenant l'AMC, comparé à un autre disque portant la même céphalosporine et placé côte à côte sur la gélose MH. En mesurant les zones d'inhibition autour de chaque disque, une différence de 5 mm entre les deux diamètres est considérée comme un indicateur de la production de BLSE par les souches testées (CA-SFM, 2023).

➤ Technique (Figure 27).

- Procéder de la même manière que le test de synergie dans la préparation de l'inoculum et l'ensemencement.
- Placer deux disques d'antibiotiques : un disque d'AMC et un disque de CTX à une distance de 2,5 cm centre à centre.
- Laisser diffuser à la température ambiante du laboratoire pendant une heure de temps.
- Remplacer le disque d'AMC par un disque de CTX.
- Incuber pendant 18 heures à 37°C.

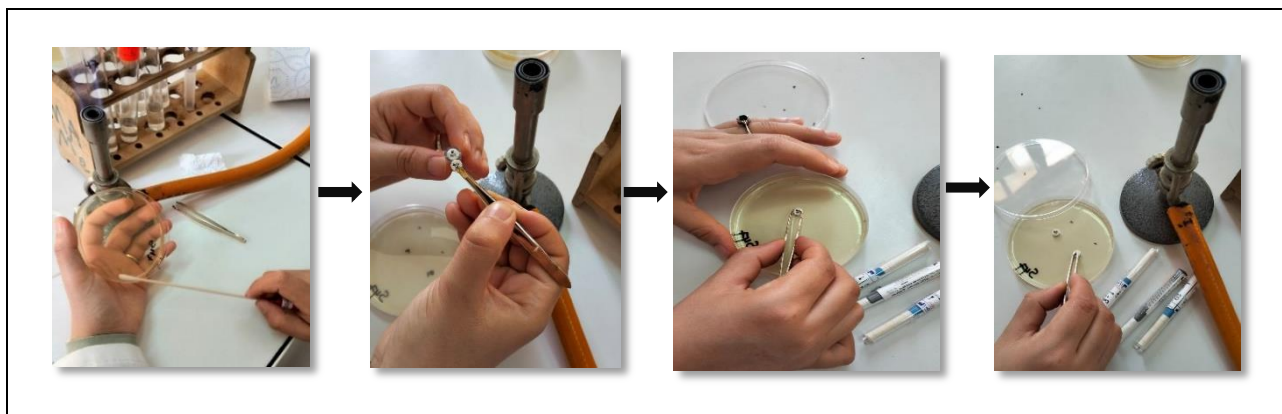


Figure 27: Réalisation de test double disque (photos personnelles, 2024)

➤ **Lecture**

Un résultat positif est indiqué si le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après la prédiffusion de l'AMC, est supérieur ou égal à 4 à 5 mm par rapport au diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de C3G seul (Figure 28).

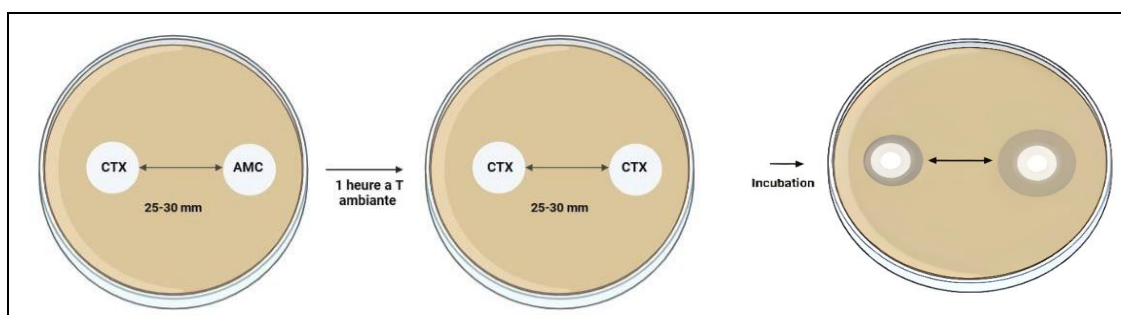


Figure 28: Lecture du test du double disque

6.2. Recherche d'une carbapénémase

6.2.1. Screening des souches suspectes productrices de CP

Il est réalisé en testant la sensibilité des souches aux carbapénèmes : l'imipénème (IMP 10 μ g) et le méropénème (MRP 10 μ g).

➤ **Technique**

- Procéder de la même manière dans la préparation de l'inoculum et l'ensemencement.
- Déposer les disques d'antibiotiques IMP et MRP.
- Incuber pendant 18 heures à 37°C.

➤ **Lecture et interprétation**

Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle. Toute souche présentant une zone de diamètre < 22mm pour IMP et/ou MRP est considérée comme suspecte productrice de CP (CA-SFM, 2023).

6.2.2. Test Carbapénémase Nordmann-Poirel (Carba NP)

➤ Principe

Le test Carba NP test est une méthode biochimique de détection des carbapénémases développée par Nordmann et son équipe. Ce test met en évidence l'acidification du milieu grâce à un indicateur coloré lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur coloré, le rouge de phénol, vire au jaune lors de l'hydrolyse de l'imipénème par production d'acide et donc diminution du pH. Ce test est actuellement recommandé en première ligne pour le dépistage de l'activité carbapénémase par le CLSI (2023) (Figure 29).

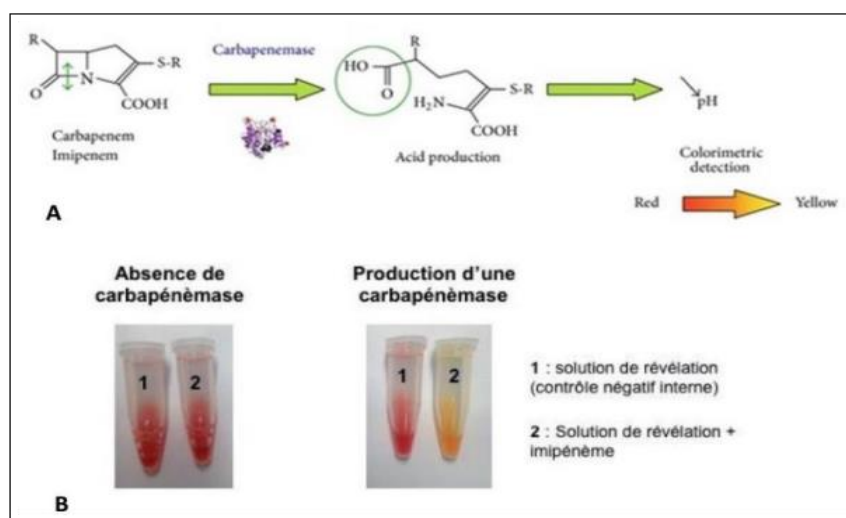


Figure 29: (A) Principe du test Carba NP, (B) Résultats du test Carba NP (Dortet *et al.*, 2013 ; Nordmann *et al.*, 2013).

➤ Technique

a) Préparation de la solution A :

La solution A (solution contenant l'indicateur de pH) est préparée comme suit :

- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume (Annexe 10).
- Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
- Ajuster le pH à 7.8, en ajoutant goutte à goutte une solution de NaOH (0,1N) (Annexe 10).
- Ajouter 180 µl d'une solution de ZnSO₄ 10 mM (Annexe 10) pour obtenir une concentration finale de ZnSO₄ à 0.1 mM.

La Solution A est stable à température ambiante pendant une semaine et peut être conservée

pendant plusieurs mois à -20°C. La solution A + imipénème (6 mg/ml) doit impérativement être préparée extemporanément.

b) Protocole (Figure 30)

- Ajouter 200 µl du tampon de lyse Tris-HCl 20 mM dans 1 tube Eppendorf de 1.5 ml.
- Bien resuspendre une öse calibrée (10 µl) de colonies bactériennes dans le tube contenant le tampon de lyse (les colonies bactériennes peuvent être prélevées à partir de la culture autour du disque IMP ou MRP).
- Vérifier que les colonies ont bien été remises en suspension.
- Mélanger par Pipetage (de haut en bas) ou par vortex pendant 5 secondes, pour bien dissocier les colonies bactériennes dans le tampon de lyse.
- Mettre 100 µl de lysat bactérien dans deux tubes d'Eppendorf étiquetés « A » et « B » + code de la souche testée.
- Pour chaque souche à tester, ajouter (i) 100 µl de Solution A dans le premier tube Eppendorf puis (ii) 100 µl de Solution A + imipénème 6 mg/ml dans le second tube Eppendorf.
- Vortexer.
- Incuber à 37°C pendant un maximum de 2h

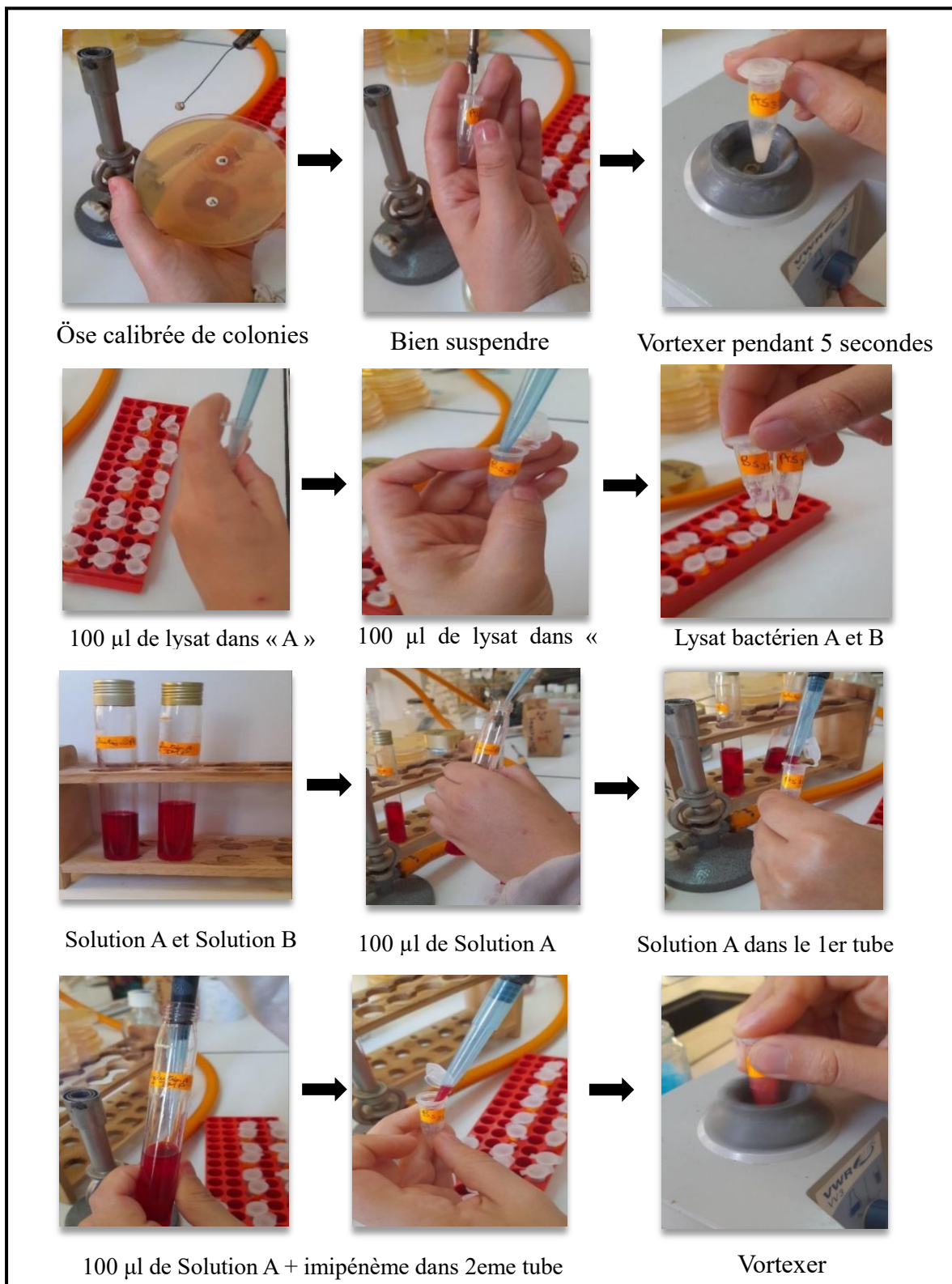


Figure 30 : Protocole du test Carba NP (photos personnelles, 2024)

➤ **Lecture et interprétation**

La lecture et l'interprétation du test Carba NP est faite selon le tableau 03.

Tableau 03: Interprétation des résultats de test Carba NP (CLSI, 2023).

Tube 1 (sans imipénème)	Tube 2 (plus imipénème)	Interprétation
Rouge ou rouge orange	Rouge ou rouge orange	Négative pas de carbapénèmase
Rouge ou rouge orange	Orange claire, jaune foncé, ou jaune	Positive production de carbapénèmase
Rouge ou rouge orange	Orange	Invalide
Orange, orange claire, jaune foncé, ou jaune	N'importe quelle couleur	Invalide

Chapitre 03
Résultats et discussion

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La production avicole, notamment celle du poulet, constitue une filière essentielle dans les pays en voie de développement, dont l'Algérie. Cependant, les pratiques liées à l'utilisation des antibiotiques en aviculture ont contribué à l'émergence des bactéries résistantes, principalement, les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et de carbapénémases (CP), suscitant ainsi une préoccupation croissante pour la santé publique. Notre étude vise à identifier des entérobactéries résistantes aux bêta-lactamines isolées de la viande de poulet et à rechercher des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et des carbapénémases (CP).

Les résultats ont montré la prédominance d'*E.coli* avec présence d'espèces opportunistes comme *Klebsiella oxtoca* et *Proteus mirabilis* et d'autres pathogènes comme *Salmonella arizonae*. La production des BLSE a été confirmée dans une proportion significative de ces souches, qui présentaient également des taux de résistance relativement élevés aux bêta-lactamines : amoxicilline-acide clavulanique, céfotaxime, ceftazidime et céfépime. En revanche, la production des CP a été détectée dans une faible proportion des souches.

Bien que les céphalosporines de troisième génération soient rarement prescrites en aviculture, cette étude montre la présence des entérobactéries résistantes à ces bêta-lactamines dans la viande de poulet. Ce constat est justifié par les mauvaises pratiques en élevage de poulet, confirmées par les données fournies par le questionnaire réalisé sur l'utilisation des bêta-lactamines dans l'élevage avicole dans la région de Tébessa. Il s'agit principalement de l'automédication, de l'usage excessif d'antibiotiques et du manque d'hygiène.

Notre étude met en évidence de manière significative l'émergence des entérobactéries productrices de BLSE dans la viande de poulet, qui constitue une source potentielle de transmission de ces bactéries à l'homme, posant ainsi un risque pour la santé publique. Il est essentiel de noter également l'importance des entérobactéries productrices de carbapénémases dans ce contexte.

En perspectives, nous proposons :

❖ **Des perspectives de recherche pour compléter les résultats obtenus :**

- Effectuer le test à la cloxacilline pour rechercher la présence de BLSE en association avec une céphalosporinase.
- Réaliser une caractérisation moléculaire des souches d'entérobactéries productrices de BLSE et de CP et des gènes de résistance codant pour ces bêta-lactamases.
- Caractériser d'autres mécanismes de résistance non enzymatiques, des entérobactéries aux bêta-lactamines.

❖ **Des perspectives de solutions :**

- Mettre en place des alternatives pour minimiser le risque lié à l'utilisation des antibiotiques, telles que le "Projet Poulet Vert" lancé en 2020 par des laboratoires français en partenariat avec la société Plantaxion en Algérie, qui vise à produire du poulet sans utilisation d'antibiotiques, ce projet est réellement mis en place depuis 2022.
- Promouvoir l'utilisation d'alternatives biologiques, pour remplacer les antibiotiques en élevage de poulet, notamment les molécules bioactives telles que les bactériocines et les huiles essentielles de plantes médicinales.
- Sensibiliser et former sur l'approche "Une seule santé" afin de renforcer la coopération entre les secteurs de la santé publique, de la santé vétérinaire et de l'agriculture.

Recommandations

➤ Pour les consommateurs :

Bien cuire la viande de poulet afin d'éliminer tout risque associé aux bactéries résistantes.

➤ Pour les vétérinaires :

Encourager une utilisation prudente des antibiotiques en aviculture, ceux-ci ne doivent être prescrits que lorsque cela est strictement nécessaire, conformément en suivant les meilleures pratiques de gestion des antibiotiques.

➤ Pour les éleveurs :

- Travailler en collaboration étroite avec des vétérinaires pour un suivi régulier de la santé animale et appliquer les traitements seulement lorsque cela est nécessaire, en respectant les doses et durées prescrites.
- Adopter des pratiques d'élevage hygiéniques, assurer des conditions de vie optimales, notamment un environnement approprié, une alimentation équilibrée et des soins adéquats.

*Références
bibliographiques*

A

- Abbassi, M. S., Zouari, M., Hassen, B., Zniter, S., Dimassi, A., & Mansouri, R. (2017).** ESBL/Cephalosporinase-Producing *Escherichia Coli* from Retail Poultry Meat in Tunisia: Predominance of Blactx-M Gene and Multidrug Resistance. *Journal of Microbes and Microbio Technic*, 1(1), 10.
- Abd El-Tawab, A. A., Soliman, E. A., El-Dahshan, E. M., & El-Bery, A. R. (2022).** Molecular studies on some antibiotic-resistant genes of *Klebsiella* species isolated from chicken. *Benha Veterinary Medical Journal*, 41(2), 1-5.
- Abdel-Kader, F., Hamza, E., Abdel-Moein, K. A., & Sabry, M. A. (2022).** Retail chicken giblets contaminated with extended-spectrum cephalosporin- and carbapenem-resistant *Salmonella enterica* carrying blaCMY-2. *Veterinary World*, 15(5), 1297-1304.
- Abdi, R. D., Mengstie, F., Beyi, A. F., Beyene, T., Waktole, H., Mammo, B., Ayana, D., & Abunna, F. (2017).** Determination of the sources and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolated from the poultry industry in Southern Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 17, 352.
- Abreu, R., Semedo-Lemsaddek, T., Cunha, E., Tavares, L., & Oliveira, M. (2023).** Résistance aux médicaments antimicrobiens dans la production avicole : État actuel et stratégies innovantes pour le contrôle bactérien. *Microorganisms*, 11(4), 953.
- Agabou, A., Lezzar, N., Ouchenane, Z., Khemissi, S., Satta, D., Sotto, A., et al. (2015).** Clonal relationship between human and avian ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* isolates in North-Eastern Algeria. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 35, 227–234.
- Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. (2024).** Aliments contaminés par la bactérie *E. coli* : quels effets sur la santé et comment prévenir. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/content/aliments-contaminés-par-la-bactérie-e-coli-quels-effets-sur-la-santé-et-comment-prévenir>
- Apata, D. F. (2009).** Antibiotic Resistance in Poultry. *International Journal of Poultry Science*, 8(4), 404–408.

B

Badraoui, K. (2016). Évaluation de la qualité nutritionnelle et organoleptique des viandes blanches : cas de la dinde (*Meleagris gallopavo*). Mémoire de Mémoire de master : Département d'Agronomie. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid .10p

Barka, M. S., Cherif-Anntar, A., & Benamar, I. (2021). Antimicrobial resistance patterns and transferable traits in Enterobacteriaceae isolates from poultry in Tlemcen, Algeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 22(2), 196-203.

Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H., & Davies, A. (2011). The Enterobacteriaceae and Their Significance to the Food Industry. ILSI Europe Report Series, 1-48.

Baynes, R. E., Dedonder, K., Kissell, L., Mzyk, D., Marmulak, T., Smith, G., Tell, L., Gehring, R., Davis, J., & Riviere, J. E. (2016). Health concerns and management of select veterinary drug residues. *Food and Chemical Toxicology*, 88, 112-122.

Bedekelabou, A. P., Talaki, E., Dolou, M., Diouf, A., & Bada Alamedji, R. (2020). Antibiotic resistance of enterobacteria (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., and *Salmonella* spp.) isolated from healthy poultry and pig farms in peri-urban areas of Lome, Togo. *African Journal of Microbiology Research*, 14(12), 657-666.

Belmahdi, M., Bakour, S., Al Bayssari, C., Touati, A. and Rolain, J.M. (2016) Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Béjaïa, Algeria. *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, 6(9), 108-112.

Benameur, Q., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Guettou, B., Tahrat, N., Aggoune, N., Rahal, K. and Ben-Mahdi, M.H. (2018) Isolation of *Escherichia coli* carrying the blaCTX-M-1 and qnrS1 genes from reproductive organs of broiler breeders and internal contents of hatching eggs, *J. Vet. Med. Sci.* ; 80(10): 1540–1543

Benameur, Q., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Guettou, B., Rahal, K. and Ben-Mahdi, M.H. (2019) Detection of multidrug-resistant *Escherichia coli* in the ovaries of healthy broiler breeders with emphasis on extended-spectrum β -lactamases producers. *Comp Immunol, Microbiol Infect Dis.*, 64(6): 163-167.

Benklaouz, M. B., Aggad, H., & Benameur, Q. (2020). Resistance to multiple first-line antibiotics among *Escherichia coli* from poultry in Western Algeria. *Veterinary World*, 13(2), 271-277

Berghiche, A., Khenenou, T., Bouzebda-Afri, F., Lamraoui, R., & Labied, I. (2017). Detection of the antibiotic residues in broiler chickens by microbiological screening test in Algeria. *Global Veterinaria*, 19(2), 504–508.

Bhaisare, D. B., Thyagarajan, D., Churchill, R. R., & Punniamurthy, N. (2014). Bacterial Pathogens in Chicken Meat: Review. *International Journal of Life Sciences Research*, 2(3), 1-7.

BioMérieux. Galeries d'identification API. Disponible sur : <https://www.biomerieux.fr/fr/diagnostic-clinique/galeries-didentification-api>

Bonardi, S., & Pitino, R. (2019). Carbapenemase-producing bacteria in food-producing animals, wildlife and environment: A challenge for human health. *Italian Journal of Food Safety*, 8, 7956.

Bonomo, R. A., Burd, E. M., Conly, J., Limbago, B. M., Poirel, L., Segre, J. A., & Westblade, L. F. (2018). Carbapenemase-producing organisms: A global scourge. *Clinical Infectious Diseases*, 66(8), 1290-1297.

Broom, L. J., & Kogut, M. H. (2018). The role of the gut microbiome in shaping the immune system of chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 204, 44–51.

Bush, K. (2018). Past and Present Perspectives on β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(10), e01076-18.

C

Casella, T., Nogueira, M. C. L., Saras, E., Haenni, M., & Madec, J. Y. (2017). High prevalence of ESBLs in retail chicken meat despite reduced use of antimicrobials in chicken production, France. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 271-275.

Chaabane, A. A., & Sara, C. (2018). Recherche des carbapénèmases chez des souches bactériennes isolées des viandes de volailles. Mémoire de master: Microbiologie appliquée: Tébessa : Université de Tébessa.38 p

Cegar, S., Kuruca, L., Vidovic, B., Antic, D., Hauge, S. J., Alvseike, O., & Blagojevic, B. (2022). Risk categorisation of poultry abattoirs on the basis of the current process hygiene criteria and indicator microorganisms. *Food Control*, 132, 108530.

Clavijo, V., & Vives Flórez, M. J. (2018). The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. *Poultry Science*, 97(3), 1006-1021.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (33rd ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute. Disponible sur <https://clsi.org/>.

Collignon, P. J., & McEwen, S. A. (2019). One Health—Its Importance in Helping to Better Control Antimicrobial Resistance. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 4(1), 22.

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). (2023). Société Française de Microbiologie. Disponible sur https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2023/06/CASFM2023_V1.0.pdf

D

Dankittipong, N., Alderliesten, J. B., Van den Broek, J., Dame-Korevaar, M. A., Brouwer, M. S. M., Velkers, F. C., Bossers, A., de Vos, C. J., Wagenaar, J. A., Stegeman, J. A., & Fischer, E. A. J. (2023). Comparing the transmission of carbapenemase-producing and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* between broiler chickens. *Preventive Veterinary Medicine*, 219, 105998.

De Angelis, G., Del Giacomo, P., Posteraro, B., Sanguinetti, M., & Tumbarello, M. (2020). Molecular mechanisms, epidemiology, and clinical importance of β -lactam resistance in Enterobacteriaceae. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 5090.

Debbagh, F., Idam, F., Lamrani Hanchi, A., & Soraa, N. (2023). OXA-48 Carbapenemase-Producing *Salmonella typhimurium* Nosocomial Bacteremia in the Intensive Care Unit: A Case Report and Review of the Literature. *Cureus*, 15(3).449, 35-37

Dierikx, C., Van Der Goot, J., Fabri, T., Van Essen-Zandbergen, A., Smith, H., & Mevius, D. (2013). Extended-spectrum beta-lactamase and AmpC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68, 60–67.

Dierikx, C.M., Van der Goot, J.A., Smith, H.E., Kant, A. and Mevius, D.J. (2013) Presence of ESBL AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: a descriptive study. *PLoS One*, 8(11): e79005.

Dortet, L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2013). Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Feuillets de Biologie*, 312, 1-13.

Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. (2010). Three Decades of β -Lactamase Inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 160–201.

Drzewiecka, D. (2016). Significance and roles of *Proteus* spp. bacteria in natural environments. *Microbial Ecology*, 72(4), 741-758.

E

EFSA. (2011). Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal*, 9, 2322-2417.

El-Shannat, S. M., Abd El-Tawab, A. A., & Hassan, W. M. M. (2020). Emergence of *Raoultella ornithinolytica* isolated from chicken products in Alexandria, Egypt. *Vet World*, 13(7), 1473-1479.

Eltai, N. O., Yassine, H. M., El-Obeid, T., Al-Hadidi, S. H., Al Thani, A. A., & Alali, W. Q. (2020). Prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from local and imported retail chicken carcasses. *Journal of Food Protection*, 83(12), 2200-2208.

European Centre for Disease Prevention and Control. (2018). Home surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Surveillance report. Retrieved from <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2018>

F

FAO. (2022). Food Outlook – Biannual Report on Global Food Markets. Rome, Italy.

Firildak, G., Asan, A., & Goren, E. (2015). Chicken carcass bacterial concentration at poultry slaughtering facilities. *Asian Journal of Biological Sciences*, 8(1), 16–29.

G

Gajdács, M. (2020). Epidemiology of Raoultella species in the context of human infections: A 10-year retrospective study in a tertiary-care hospital in Hungary. *Trends in Medicine*, 20(1), 1-4.

Gao Y, Wen J, Wang S, Xu X, Zhan Z, Chen Z, et al. Plasmid-encoded bla_{NDM-5} gene that confers high-level carbapenem resistance in Salmonella Typhimurium of pork origin. *Infect Drug Resist.* 2020; 13: 1485–90.

Garcês, A. (2023). Why Do Antibiotics Fail? A Veterinary Perspective. *Small Animal Advances*, 1(1), 10–15.

Gautier, G., Guillard, T., Podac, B., Bercot, B., Vernet-Garnier, V., & de Champs, C. (2018). Detection of different classes of carbapenemases: adaptation and assessment of a phenotypic method applied to Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii, and proposal of a new algorithm. *Journal of Microbiological Methods*, 147, 26–35.

Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R., & Pavilonis, A. (2011). Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (Kaunas)*, 47, 137–146.

Goro, M. A. A. (2021). Étude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020 : Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako.12-13p.

Gray, P., Jenner, R., Norris, J., Page, S., & Browning, G. (2021). Antimicrobial prescribing guidelines for poultry. *Australian Veterinary Journal*, 99(6), 181-235.

Gržinić, G., Piotrowicz-Cieślak, A., Klimkiewicz-Pawlas, A., Górny, R. L., Ławniczek-Wałczyk, A., Piechowicz, L., Olkowska, E., Potrykus, M., Tankiewicz, M., Krupka, M.,

Siebielec, G., & Wolska, L. (2023). Intensive poultry farming: A review of the impact on the environment and human health. *Science of the Total Environment*, 858(Pt 3), 160014.

Gundogan, N.; Citak, S. and Yalcin, E. (2011): Virulence properties of extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella* species in meat samples. *J. Food Prot.* 74:559-564

Guo, K., Zhao, Y., Cui, L., Cao, Z., Zhang, F., Wang, X., Feng, J., & Dai, M. (2021). The Influencing Factors of Bacterial Resistance Related to Livestock Farm: Sources and Mechanisms. *Frontiers in Animal Science*, 2, 650347.

Gupta, V., Ye, G., Olesky, M., Lawrence, K., Murray, J., & Yu, K. (2019). National prevalence estimates for resistant Enterobacteriaceae and Acinetobacter species in hospitalized patients in the United States. *International Journal of Infectious Diseases*, 85, 203–211.

H

Hafez, H. M., & Hauck, R. (2014). Zoonoses with public health relevance in poultry. In A. Sing & L. Martin (Eds.), *Zoonoses—Infections Affecting Humans and Animals*. Springer.103–123p

Harris, P. N. A. (2015). Clinical management of infections caused by Enterobacteriaceae that express extended-spectrum β -lactamase and AmpC enzymes. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 36(1), 56–73.

Hasan, H. J., Abdulwahid, M. T., & Ayyez, H. N. (2023). Molecular detection and phylogenetic analysis of *Citrobacter freundii* isolates from broilers in AL-Diwaniyah province of Iraq. *International Journal of Health Sciences*, 6(S9), 4736–4752.

Hassan, B. A. (2019). *Klebsiella pneumonia* growth on MacConkey agar medium. Disponible sur <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.12593.84329>

Hassanin, F. S., Salem, A. M., Hassan, M. S., & Gaafar, M. H. (2013). Enterobacteriaceae in edible offal. *Benha Veterinary Medical Journal*, 25, 77-87.

Hernández, A., Hidalgo, M., Domínguez, J., Ramos-Vivas, J., Fernández-Lafuente, J., & Guisasola, J. (2017). Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. *Biochemical Society Transactions*, 45(6), 1427-1444.

J

Jung, H.-R., Lee, Y. J., Hong, S., Yoon, S., Lim, S.-K., & Lee, Y. J. (2023). Current status of β -lactam antibiotic use and characterization of β -lactam-resistant *Escherichia coli* from commercial farms by integrated broiler chicken operations in Korea. *Poultry Science*, 102(12), 103091.

K

Kaesbohrer, A., Bakran-Lebl, K., Irrgang, A., Fischer, J., Kämpf, P., Schiffmann, A., Werckenthin, C., Busch, M., Kreienbrock, L., Hille, K., 2019. "Diversity in prevalence and characteristics of ESBL/pAmpC producing *E. coli* in food in Germany." *Vet. Microbiol.* 233, 52-60.

Kim, H.-E., Lee, J.-J., Lee, M.-J., & Kim, B.-S. (2019). Analysis of microbiome in raw chicken meat from butcher shops and packaged products in South Korea to detect the potential risk of foodborne illness. *Food Research International*, 122, 517–527.

Kirouani, Lyes. (2015). Structure et organisation de la filière avicole en Algérie : cas de la wilaya de Bejaia / Structure and Organization of the Poultry Sector in Algeria: Case of the Province of Bejaia. *El-Bahith Review*, 15, 187-199

Koju, P., Shrestha, R., Shrestha, A., Tamrakar, S., Rai, A., Shrestha, P., Madhup, S. K., Katuwal, N., Shrestha, A., Shrestha, A., Shrestha, S., K.C, S., Karki, P., Tamang, P., Thekkur, P., & Shakya Shrestha, S. (2022). Antimicrobial Resistance in *E. coli* Isolated from Chicken Cecum Samples and Factors Contributing to Antimicrobial Resistance in Nepal. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 7(9), 249.

Kralik, G., Kralik, Z., Košević, M., & Hanžek, D. (2018). Quality of Chicken Meat. In Kralik, G., Kralik, Z., Košević, M., & Hanžek, D. (Eds.), *Animal Husbandry and Nutrition*. 64-67p.

Kumar, P., Verma, A. K., Umaraw, P., Mehta, N., & Sazili, A. Q. (2022). Processing and preparation of slaughtered poultry. In *Postharvest and Postmortem Processing of Raw Food Materials: Unit Operations and Processing Equipment in the Food Industry*. Elsevier.281-314p.

L

Lagier, J.-C., Hugon, P., Khelaifia, S., Fournier, P.-E., La Scola, B., & Raoult, D. (2015). The rebirth of culture in microbiology through the example of culturomics to study human gut microbiota. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(1), 237-264.

Leinyuy, J. F., Ali, I. M., Karimo, O., & Tume, C. B. (2022). Patterns of antibiotic resistance in Enterobacteriaceae isolates from broiler chicken in the West Region of Cameroon: A cross-sectional study. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 18 p.

Li, S., Mann, D. A., Zhang, S., Qi, Y., Meinersmann, R. J., & Deng, X. (2020). Microbiome-informed food safety and quality: Longitudinal consistency and cross-sectional distinctiveness of retail chicken breast microbiomes. *mSystems*, 5(5), e00589-20.

Liang, X., Gong, T., Chen, J.-J., Chen, T.-J., Yang, J.-L., & Zhu, P. (2023). Influence of Long-Term Agar-Slant Preservation at 4 °C on the Recombinant Enzyme Activity of Engineered Yeast. *Fermentation*, 9(2), 104.

Liu, H., Zhu, J., Hu, Q., & Rao, X. (2016). *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *International Journal of Infectious Diseases*, 50, 10–7.

M

Magalhães, S., Soares, M.P. & Gordo, I. 2013.The genetic basis of *Escherichia coli* patho adaptation to macrophages. *PLoS Pathogens*, 9:e1003802

Magnusson, U. (2021). How to use antibiotics effectively and responsibly in poultry production - for the sake of human and animal health. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from <http://www.fao.org/3/cb4157en/cb4157en.pdf>

Références bibliographiques

Mahmoudi, N., Ikhlef, H., Kaci, A., & Mahmoudi, S. (2019). Évaluation de la durabilité socio-économique des ateliers avicoles à M'sila (Algérie). *NEW MEDIT*, 4, 66-67p

Manyi-Loh, C., Mamphweli, S., Meyer, E., and Okoh, A. (2018). Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications. *Molecules* 23:795.

Marangoni, F., & C., G. C. (2015). Role of poultry meat in a balanced diet aimed at maintaining health and wellbeing: an Italian consensus document. *Food Nutr Res*, 59(1).

Marmion, M., Ferone, M. T., Whyte, P., & Scannell, A. G. M. (2021). The changing microbiome of poultry meat: From farm to fridge. *Food Microbiology*, 99, 103823.

Marshall, B. M., & Levy, S. B. (2011). Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(4), 718-733.

Mhaya, Amel. (2019). "Analyse de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et étude d'une potentielle voie alternative aux traitements antibiotiques." Thèse en cotutelle présentée à l'Université de Bordeaux, France, École Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé, 25-37 p

Miskinyte, M., Sousa, A., Ramiro, R.S., de Sousa, J.A.M., Kotlinowski, J., Caramalho, I., Moawad, A. A., Hotzel, H., Neubauer, H., Ehricht, R., Monecke, S., Tomaso, H., Hafez, H. M., Roesler, U., & El-Adawy, H. (2018). Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae from healthy broilers in Egypt: emergence of colistin-resistant and extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Gut Pathogens*, 10(1), 39.

Murray, M., Salvatierra, G., D'avila-Barclay, A., Ayzanoa, B., Castillo-Vilcahuaman, C., Huang, M., Pajuelo, M.J., Lescano, A.G., Cabrera, L., Calderon, M., Berg, D.E., Gilman, R.H., & Tsukayama, P. (2021). Market chickens as a source of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in a peri-urban community in Lima, Peru. *Frontiers in Microbiology*, 12. Retrieved from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.635871>

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2020). *Medical Microbiology* (4ème édition). Elsevier. Section 04 Bacteriology, 144-270 p

N

Ndukui, J. G., Gikunju, J. K., Aboge, G. O., Mwaniki, J. K., Maina, J. N., & Mbaria, J. M. (2022). Molecular characterization of ESBLs and QnrS producers from selected Enterobacteriaceae strains isolated from commercial poultry production systems in Kiambu County, Kenya. *Microbiology Insights*, 15, 1–8.

Nhung, N. T., Chansiripornchai, N., & Carrique-Mas, J. J. (2017). Antimicrobial resistance in bacterial poultry pathogens: A review. *Frontiers in Veterinary Science*, 4, 126.

Nordmann, P., Dortet, L., & Poirel, L. (2013). Multirésistance aux antibiotiques: l'émergence des entérobactéries productrices de carbapénèmes. *Revue francophone des laboratoires*-février, 449, 35-37

Nossair, M. A., Abd El Baqy, F. A., Rizk, M. S. Y., Elaadli, H., Mansour, A. M., Abd El-Aziz, A. H., Alkhedaide, A., Soliman, M. M., Ramadan, H., Shukry, M., & Shaaban, S. I. (2022). Prevalence and Molecular Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamases and AmpC β -lactamase-Producing Enterobacteriaceae among Human, Cattle, and Poultry. *Pathogens*, 11(8), 852.

O

O'Neill, J. (2016). Lutter contre les infections résistantes aux médicaments à l'échelle mondiale : Rapport final et recommandations. Disponible sur <https://apo.org.au/node/63983>

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (2020). Meat consumption (indicator). OECD Publishing. Retrieved from [Agricultural output - Meat consumption - OECD Data](#) (Accessed on 11 avril 2024).

Ojer-Usoz, E., González, D., Vitas, A. I., Leiva, J., García-Jalón, I., Febles-Casquero, A., & Escolano, M. L. (2013). Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in meat products sold in Navarra, Spain. *Meat Science*, 93(2), 316-321.

Oli, A. N., Itumo, C. J., Okam, P. C., Ezebialu, I. U., Okeke, K. N., Ifezulike, C. C., Ezeobi, I., Emechebe, G. O., Okezie, U. M., Adejumo, S. A., & Okoyeh, J. N. (2019). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae posing a dilemma in effective healthcare delivery. *Antibiotics*, 8,156.

Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE). (2015). "Rapport sur la Santé Mondiale Animale", Disponible sur https://web.oie.int/downld/SG/2015/F_RF_2015.pdf

Ortega-Paredes, D., de Janon, S., Villavicencio, F., Jaramillo Ruales, K., De La Torre, K., Villacís, J. E., Wagenaar, J. A., Matheu, J., Bravo-Vallejo, C., Fernández-Moreira, E., & Vinueza-Burgos, C. (2020). Broiler Farms and Carcasses Are an Important Reservoir of Multi-Drug Resistant *Escherichia coli* in Ecuador. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 547843.

P

Palmieri, N., Hess, C., Hess, M., & Alispahic, M. (2020). Sequencing of five poultry strains elucidates phylogenetic relationships and divergence in virulence genes in *Morganella morganii*. *BMC Genomics*, 21(1), 579.

Pandey, N., & Cascella, M. (2019). Beta lactam antibiotics. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545311/>

Patel, K. K., & Patel, S. (2016). Enterobacter spp.: An emerging nosocomial infection. *International Journal of Applied Research*, 2(11), 532-538.

Pavelquesi, S. L. S., Ferreira, A. C. A. O., Rodrigues, L. F. S., Silva, C. M. d. S., da Silva, I. C. R., & Orsi, D. C. (2023). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from chilled chicken meat commercialized at retail in the Federal District, Brazil. *Journal of Food Protection*, 86(100130).

Perez, F., & Bonomo, R. A. (2012). Can we really use β -lactam/ β -lactam inhibitor combinations for the treatment of infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria? *Clinical Infectious Diseases*, 54(2), 175–177.

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*, 1-9p.

PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences). (2018). Revue américaine. Disponible sur <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1717295115>

Prakash, O., Nimonkar, Y., & Desai, D. (2020). A recent overview of microbes and microbiome preservation. *Indian Journal of Microbiology*, 60(3), 297-309.

Prescott, L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2018). *Microbiologie de Prescott* (5e éd., Traduction de Jacques Coyette, Jean-Paul Joseleau et Robert Perraud). De Boeck Supérieur. 509p,

R

Randall, L.P., Lodge, M.P., Elviss, N.C., Lemma, F.L., Hopkins, K.L., Teale, C.J., & Woodford, N. (2017). Évaluation de la viande, des fruits et des légumes provenant de magasins de détail dans cinq régions du Royaume-Uni en tant que sources d'*Escherichia coli* produisant des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et résistantes aux carbapénèmes. *Int. J. Food Microbiol.* 241, 283-290.

Raphael, E. and Riley, L.W. (2017). Infections Caused by Antimicrobial drugresistant saprophytic gram-negative bacteria in the Environment .*Front. Med.*, 4:183.

Rasheed, M. U., Thajuddin, N., Ahamed, P., Teklemariam, Z., & Jamil, K. (2014). Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated from food sources. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56, 341–346.

Rasmussen, M. M., Opintan, J. A., Frimodt-Møller, N., & Styrishave, B. (2015). Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* Isolates in Imported and Locally Produced Chicken Meat from Ghana. *PLOS ONE*, 10(10), e0139706.

Reich, F., Valero, A., Schill, F., Bungenstock, L., & Klein, G. (2018). Characterisation of *Campylobacter* contamination in broilers and assessment of microbiological criteria for the pathogen in broiler slaughterhouses. *Food Control*, 87, 60–69.

Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques. (2011). Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine vétérinaire et humaine) (6e éd.). Alger : Bibliothèque Pasteur. Disponible sur

Références bibliographiques

<https://bibliotheque.pasteur.dz/fr/expression-des-besoins/recherche-de-livres/2-bibliotheque-pasteur/640-standardisation-de-l-antibiogramme-a-l-echelle-nationale>

Ribeiro, J., Silva, V., Monteiro, A., Vieira-Pinto, M., Igrejas, G., Reis, F. S., Barros, L., & Poeta, P. (2023). Antibiotic Resistance among Gastrointestinal Bacteria in Broilers: A Review Focused on Enterococcus spp. and Escherichia coli. *Animals*, 13(8), 1362.

Rijal, N. (2024). ESBL and Classification of β -lactamases. *Microbe Online*. Retrieved from <https://microbeonline.com/betalactamase-classification/>.

Ristori, C. A., Rowlands, R. E. G., Martins, C. G., Barbosa, M. L., Yoshida, J. T. U., & de Melo Franco, B. D. G. (2014). Prevalence and populations of *Listeria monocytogenes* in meat products retailed in São Paulo, Brazil. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(12), 969–973.

Ritchie, H., Rosado, P., & Roser, M. (2017). Meat and Dairy Production. *Our World in Data*. Retrieved from <https://ourworldindata.org/meat-production>

Rousham, E.K., Unicomb, L., & Islam, M.A. (2018). Contributions humaines, animales et environnementales à la résistance aux antibiotiques dans les contextes à faibles ressources : Intégration des approches comportementales, épidémiologiques et One Health. *Proceedings of the Royal Society B*, 285(1886), 20180332.

Rozwandowicz, M., Brouwer, M. S. M., Fischer, J., Wagenaar, J. A., Gonzalez-Zorn, B., Guerra, B., Mevius, D. J., & Hordijk, J. (2018). Plasmids carrying antimicrobial resistance genes in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(5), 1121-1137.

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*, 27(4151).

S

Salifou, C.F.A., Boko, K.C., Ahounou, G.S., Tougan, P.U., Kassa, S.K., Houaga, I., Farougou, S., Mensah, G.A., Clinquart, A., & Youssao, A.K.I. (2013). Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(3), 1351-1369.

Sarowska, J., Olszak, T., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Futoma-Koloch, B., Gawel, A., et al. (2022). Comparative characteristics and pathogenic potential of *Escherichia*

coli isolates originating from poultry farms, retail meat, and human urinary tract infection. *Life*, 12(6), 845.

Seng, P., Boushab, B. M., Romain, F., Gouriet, F., Bruder, N., Martin, C., & Paganelli, F. (2016). Emerging role of *Raoultella ornithinolytica* in human infections: A series of cases and review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases*.

Seo, K. W., Shim, J. B., & Lee, Y. J. (2019). Emergence of CMY-2-Producing *Escherichia coli* in Korean Layer Parent Stock. *Microbial Drug Resistance*, 25(3), 462–468.

Shaltout, F. A., Nasief, M. Z., Lotfy, L. M., & Gamil, B. T. (2019). Microbiological status of chicken cuts and its products. *Benha Veterinary Medical Journal*, 37, 57-63.

Skořcová, A., Kolačková, I., Bogdanovičová, K., & Karpíšková, R. (2014). Characterization and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from retail meats purchased in the Czech Republic. *Food Control*, 47, 401-406.

Slama, K. B., Jouini, A., Sallem, R. S., Somalo, S., Saenz, Y., Estepa, V., Boudabous, A., & Torres, C. (2010). Prevalence of broad-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates in food samples from Tunisia, and characterization of integrons and antimicrobial resistance mechanisms implicated. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 281-286.

Soltan Dallal, M. M., Doyle, M. P., Rezadehbashi, M., Dabiri, H., Sanaei, M., Modarresi, S., Bakhtiari, R., Sharifiy, K., Taremi, M., Zali, M. R., & Sharifi-Yazdi, M. K. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serotypes, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran. *Food Control*, 21(4), 388-392

Standardisation de L'antibiogramme à L'échelle Nationale (Médecine Vétérinaire et Humaine) (2011) 6th ed, SAEN, Algeria.

Szalo, I.M., Taminiau, B., & Mainil, J. (2006). *Escherichia coli* lipopolysaccharide: Structure, biosynthesis and roles. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 150(2), 108-124.

T

Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. J., & McDermott, P. F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerging Infectious Diseases*, 18, 741–749.

Tekele, S. G., Teklu, D. S., Tullu, K. D., Birru, S. K., & Legese, M. H. (2020). Extended-spectrum beta-lactamase and AmpC beta-lactamases producing gram-negative bacilli isolated from clinical specimens at International Clinical Laboratories, Addis Ababa, Ethiopia. *PLoS ONE*, 15(11), e0241984.

Tekiner, I. H., & Özpınar, H. (2016). Occurrence and characteristics of extended spectrum beta-lactamases-producing Enterobacteriaceae from foods of animal origin. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 444–451

Torres, A. G., Arenas-Hernández, M. M., & Martínez-Laguna, Y. (2010). Overview of *Escherichia coli*. Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America, 1–7.

Tschudin-Sutter, S., Frei, R., Stephan, R., Hächler, H., Nogarth, D., & Widmer, A. F. (2014). Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: A threat from the kitchen. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 35(5), 581-584.

V

Vallée, M., Bey, E., Le Goux, C., Cattoir, V., & Gaborit, B. J. (2018). Résistances bactériennes : que doit savoir l'urologue ? [Bacterial resistances: What should the urologist know?]. *Progrès en Urologie - FMC*, 28(4), F103-F106!

Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., et al. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(18), 5649–5654.

Von Salviati, C., Laube, H., Guerra, B., Roesler, U., & Friese, A. (2015). Emission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from pig fattening farms to surrounding areas. *Veterinary Microbiology*, 175(1), 77–84.

Vounba, P., Arsenault, J., Bada-Alambe´dji, R., & Fairbrother, J. M. (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, Senegal. *PLoS ONE*, 14(3), e0214304.

Vrncianu, C. O., Gheorghe, I., Dobre, E. G., Barbu, I. C., Cristian, R. E., Popa, M., Lee, S. H., Limban, C., Vlad, I. M., & Chifiriuc, M. C. (2020). Emerging strategies to combat β -lactamase producing ESKAPE pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8527.

W

Wang, R. (2019). Biofilms and Meat Safety: A Mini-Review. *Journal of Food Protection*, 82(1), 120-127.

Wilson, H. and Török, M.E. (2018) Extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Microb. Genom.* 4(7): e000197.

Woodford N, Wareham DW, Guerra B, Teale C. (2014). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? *J Antimicrob Chemother*, 69, 287-91.

World Health Organization. (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva, Switzerland: World Health Organization. Disponible en ligne <https://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>

Wu, C., Wang, Y., Shi, X., Wang, S., Ren, H., Shen, Z., et al. (2018). Rapid rise of the ESBL and mcr-1 genes in *Escherichia coli* of chicken origin in China, 2008-2014. *Emerging Microbes & Infections*, 7(1), 30.

Wu, W., Feng, Y., Tang, G., Qiao, F., McNally, A., & Zong, Z. (2019). NDM Metallo- β -Lactamases and their bacterial producers in health care settings. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2).

Y

Yassin, A. M., Basiony, A., El-Wehedy, S. E., & Zaki, H. T. (2024). Contamination of chicken meat and edible offal commercialized at retail in Sharkia Governorate, Egypt by Enterobacteriaceae. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 14(3), 496-500.

Yousef, A. E., Waite-Cusic, J. G., & Perry, J. J. (2022). Analytical food microbiology: A laboratory manual (2nd ed.). Wiley. 121p.

Z

Zarfel, G., Galler, H., Luxner, J., Petternel, C., Reinthaler, F. F., Haas, D., Kittinger, C., Grisold, A. J., Pless, P., & Feierl, G. (2014). Multiresistant Bacteria Isolated from Chicken Meat in Austria. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(12), 12582-12593.

Références bibliographiques

Zbikowska, K., Michalczuk, M., & Dolka, B. (2020). The Use of Bacteriophages in the Poultry Industry. *Animals*, 10, 872.

Zerabruk, K., Retta, N., Muleta, D., & Tefera, A. T. (2019). Assessment of Microbiological Safety and Quality of Minced Meat and Meat Contact Surfaces in Selected Butcher Shops of Addis Ababa, Ethiopia. Volume 2019, Article ID 3902690.

Zhou, Y., Li, Y., Zhang, L., Wu, Z., Huang, Y., Yan, H., Zhong, J., Wang, L.-J., Abdullah, H. M., & Wang, H. H. (2020). Antibiotic Administration Routes and Oral Exposure to

Antibiotic Resistant Bacteria as Key Drivers for Gut Microbiota Disruption and Resistome in Poultry. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1319.

Annexes

Annexe 01: Quelques entérobactéries courantes et leur pouvoir pathogène (Delarras, 2014)

Genres	Espèces	Pouvoir pathogène
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i> .	Au moins cinq groupes pathogènes différents causent la gastro-entérite : EAEC, <i>Escherichia coli</i> entéro-agrégatif ; EIEC, <i>Escherichia coli</i> entéro-invasif ; EPEC, <i>Escherichia coli</i> entéro-pathogène ; ETEC, <i>Escherichia coli</i> entéro-toxinogène ; STEC, <i>Escherichia coli</i> producteur de toxine Shiga
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella bongori</i> , <i>S. enterica</i> , <i>S. subterranean...</i>	Entérite (fièvre, nausées, vomissements, diarrhée sanglante ou non sanglante, crampes abdominales) ; fièvre entérique (fièvre typhoïde, fièvre paratyphoïde) ; bactériémie (le plus souvent observée avec les sérotypes <i>Salmonella</i> Typhi, <i>Salmonella</i> Paratyphi
<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i>	La forme la plus courante de maladie est la gastro-entérite (shigellose), une diarrhée aqueuse initiale ; la forme grave de la maladie est causée par <i>S. dysenteriae</i> (dysenterie bacillaire)
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> .	Pathogènes opportunistes responsables d'infections nosocomiales
<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>C. youngae</i> , <i>C. braakii</i> ,	Pathogènes opportunistes responsables des gastro-entérites
<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Agent responsable de gastro-entérites (diarrhée, fièvre, douleurs abdominales)
<i>Klebsiella</i>	Quatre espèces : <i>Klebsiella pneumoniae</i> . <i>K. oxytoca</i>	Responsables d'infections opportunistes hospitalières chez des malades fragilisés. <i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> , agent de pneumopathies aiguës, d'angines, d'otites...;

Annexe 02 : Principales β -lactamines et leur structure chimique (Mhaya, 2019 ; Pandey & Cascella, 2023).

Classe	Sous-classe	Exemple	Structure chimique
Pénicillines	Pénicillines G et V Phénoxy méthylpénicilline	Benzylpénicilline,	La plupart se terminent par le suffixe -cilline) contiennent un noyau d'acide 6-aminopénicillanique (lactame plus thiazolidine) et d'autres chaînes latérales d'anneaux.
	Pénicilline A (Aminopénicilline Amidinopénicilline	amoxicilline, ampicilline Mécilliname	
	6 -méthoxy pénicilline Urédopénicilline Carboxypénicilline Pénicilline M	Témocilline Pipéracilline Ticarcilline Méticilline, oxacilline, Cloxacilline	
Céphalosporines	C1G	Cefalotine, cefazoline	Elles contiennent un noyau d'acide 7-aminocephalosporanique et des chaînes latérales contenant des anneaux de 3,6-dihydro-2H-1,3-thiazane.
	C2G	Cefuroxime, céfixime, cefpodoxime céfoxitine*, céfotétan*	
	C3G	Ceftriaxone, céfotaxime, ceftazidime	
	C4G	Céfepime, céfpirome	
Monobactames		Aztréonam	L'anneau bêta-lactame se présente seul et n'est pas fusionné à un autre anneau.
Carbapénèmes	Imipénème, ertapénème, méropénème		Leur structure caractéristique est un carbapénème couplé à un anneau
Autres Inhibiteurs des β- lactamases	acide clavulanique, tazobactam Sulbactam		

Annexe 03: Résistances naturelles des entérobactéries aux β -lactamines (Mhaya, 2019).

Antibiotique	Groupe						
	0	1	2	3	4	5	6
Amoxicilline	S	S/I	R	R	R	R	I/R
Amoxicilline + AC	S	S/I	S	R	R	S	S/I
Ticarcilline	S	S	R	S	R	S	I/R
Ticarcilline + AC	S	S	S	S	S	S	S
Pipéracilline	S	S	I	S	I	S	I
Pipéracilline + TZ	S	S	S	S	S	S	S
C1G	S	S/I	S	R	R	R	I/R
C2G	S	S	S	S/I/R	S/I	R	I/R
Céfoxitine*	S	S	S	S/I/R	S	S	S
C3G	S	S	S	S	S	S	S/I
C4G	S	S	S	S	S	S	S/I
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	S	S

AC : acide clavulanique ; TZ, tazobactam, C1G, C2G, C3G, C4G : céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ième}, 3^{ième}, et 4^{ième} génération, respectivement.

* : céphamycine, S/I/R : sensible/ intermédiaire/ résistant

Annexe 04 : Appareils, instruments et consommables, verreries, réactifs et colorants utilisés.

Appareillage	Instruments et consommables	Verreries	Réactifs et colorants
Stérilisateur	Micropipette	Tubes à essai	Violet de Gentiane
Spectrophotomètre	Tubes Eppendorf	Pipettes graduées	Lugol
Etuve bactériologique	Couteaux	Flacons	Fuchsine
Balance	Papier aluminium	Béchers	Ethanol
Plaque chauffante	Bocaux en verre	Entonnoir	Réactif TDA
Autoclave	Sac Ziploc	Pipettes Pasteur	Réactifs VP 1 et VP 2
Microscope optique	Glacière	Erlenmeyer	Réactifs NIT 1 et NIT 2
Réfrigérateur	Barreaux magnétiques		Poudre de Zinc
Bec Bunsen	Portoirs métalliques		Réactif de Kovacs
Vortex	Portoirs en bois		
	Ecouvillons		
	Anse de platine		
	Embouts		
	Pince		
	Spatules		
	Lames		
	Boîtes de Pétri		
	Papier absorbant		
	Marqueur permanent		

Annexe 05 : Composition et préparation des milieux de culture utilisés pour 1 litre de milieu.

1) Eau peptonée tamponnée

- Peptone 10,0g
- Chlorure de sodium5,0g
- Phosphate disodique anhydre3,5g
- Dihydrogéo-phosphate de potassium1,5g
- pH $7,2 \pm 0,2$

2) Bouillon Tryptone-sel

Composition

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

Préparation

- 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 flacons à raison de 90ml/flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 à 20 minutes.
- Refroidir le milieu à température ambiante.

3) Gélose MacConkey

- Peptone.....20.000 g
- Sels biliaires.....1,5 g
- Cristal violet..... 0,001g
- Digestion pancréatique de gélatine.....17 g
- Rouge neutre.....0,050 g
- Mélange peptoné.....3 g
- Chlorure de sodium.....5 g
- Lactose monohydraté.....10 g
- pH final à 25°C : $7,2 \pm 0,2$

4) Gélose nutritive

Composition

- Tryptone 5,0 g
- Extrait de viande3,0 g
- Agar- agar;.....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 distillée.
- 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.

5) Gélose Mueller Hinton

Composition

- Hydrolysate acide de caséine.....17,5g
- Infusion de viande.....2,0g
- Amidon soluble..... 1,5g
- Agar agar bactériologique17,0g
- PH=7,3+-0,1à 25°C

Préparation

- Suspendre 38g du milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante jusqu'à sa dissolution complète.
- Stériliser à 121°C pendant 15 minutes.

Annexe 06 : Fiche questionnaire
L'utilisation des bêta-lactamines dans l'élevage avicole

1-Depuis quelle année travaillez-vous en tant que vétérinaire?

منذ اي عام تعمل كطبيب بيطري؟

2-Quelles sont les raisons de l'utilisation des bêta-lactamines dans l'élevage avicole?

ما هي اسباب استخدام المضادات البييتالاكتامين في تربية الدواجن؟

3-Quels types de bêta-lactamines sont couramment utilisés?

أي نوع من المضادات الحيوية للبييتالاكتامين يتم استخدامها بشكل شائع؟

4-Quels sont les modes d'administration des bêta-lactamines?

كيف يتم اعطاء مشتقات البييتالاكتامين في تربية الدواجن؟

5-Quel est le mode le plus utilisé par les éleveurs ?

ماهي الطريقة الاكثر استخداما من قبل المربيين؟

6-Pensez-vous que les éleveurs utilisent correctement les bêta-lactamines?

هل تعتقد أن المربيين يستخدمون البييتالاكتامين بشكل صحيح؟

7-Y'a-t-il des cas d'échec thérapeutique par les bêta-lactamines prescrites?

هل هناك حالات فشل علاجي باستخدام البييتالاكتامين الموصوفة؟

8-Queles sont les antibiotiques de recours dans ce cas ?

ماهي المضادات الحيوية المفضلة في هذه الحالة؟

9-Pensez-vous que l'échec thérapeutique est dû à la résistance aux antibiotiques?

هل تعتقد أن الفشل العلاجي يرجع الى مقاومة المضادات الحيوية؟

10-Y'a-t-il d'autres raisons pour cet échec?

هل هناك أسباب اخرى لهذا الفشل؟

11-Que proposez-vous pour résoudre ce problème ?

ما الذي تقترحه لحل هذه المشكلة؟

Annexe 07: Dates et lieux de prélèvement des échantillons.

Date de prélèvement	Numéro de l'échantillon	Lieu de prélèvement
09 Mars 2024	E01	Point de vente 1,Route de Tébessa –Cheria
	E02	Point de vente 2, Cité du Ali-Mehani-Tébessa
	E03	Point de vente 3, Boucherie "Sehailia Fouad"- Bir Dhab
10 Mars 2024	E04	Point de vente 4, Route de Constantine- Tébessa
16 Mars 2024	E05	Point de vente 1, Boucherie "poulet du Darmoun"-Cheria
	E06	Point de vente 3, Boucherie "Merah"-Cheria-
	E07	Point de vente 2,BoucherieTouha-cité-Skanska-Tébessa
	E08	Point de vente 4, centre-ville, Hammamet
	E09	Point de vente 5,Point de vente 2, Boucherie "Sehailia Djaballah " Bir Dhab
	E10	Point de vente 6, centre-ville, Hammamet
15 Avril 2024	E11	Point de vente 1, Boucherie cité EL-NOUR –Cheria
	E12	Point de vente2, Boucherie cité Larocade-Tébessa
	E13	Point de vente 3, Boucherie cité EL -NASR-Cheria
	E14	Point de vente 4, Boucherie cité route d’Annaba- Tébessa
	E15	Point de vente 5, Boucherie du quartier universitaire-Tébessa
	E16	Point de vente 6 , Boucherie centre-ville – Hammamet
20 Avril 2024	E17	Point de vente 02, Route de Tazbent, Cheria
	E18	Point de vente2, Cité EL-Ouiam N°02 –Tébessa
	E19	Point de vente3, Cité EXSNTV- Tébessa
	E20	Point de vente4, Cité La remonte- Tébessa
	E21	Quartier El-Wiam 02, Tébessa
	E22	Point de vente 02, Route de Tazbent, Cheria
	E23	Point de vente 02, Centre-ville, Cheria
	E24	Point de vente 02, Route de Dalaa, Cheria
28 Avril 2024	E25	Point de vente 04, Route de Tébessa, Cheria
	E26	Point de vente 05, marché, Cheria
	E27	Point de vente 05, Route de Tébessa, Cheria
	E28	Point de vente 07, marché, Cheria
	E29	Point de vente 08, marché, Cheria
	E30	Point de vente 01, centre-ville, Hammamet
	E31	Point de vente 05, centre-ville, Hammamet

Annexe 08 : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20^E

	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-Galactosidase	Beta- galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine decarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine decarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/bleu
H₂S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / immédiat	
			Jaune	Marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'indole	Kovacs/ immédiat	
			Incolore-vert pale-jaune	Rose
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2/ 10mn	
			Incolore/ rose pale	Rose/rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune/jaune gris
MAN	D-mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
Nitrate réductase Tube GLU	Potassium nitrate	Production de NO ₂ Réduction au stade N ₂	NIT1 + NIT2 / 2-3 mn	
			Jaune	Rouge
			Zinc / 5mn	
			Rouge/orangé	Jaune

Annexe 09 : Préparation de l'étalon de turbidité McFarland 0,5 (CA-SFM, 2023)

- Ajouter 0,5mL d'une solution à 0,048mol/L de BaCl, (1,175% p/v BaCl₂, 2H₂O) à 99,5 mL d'une solution 0,18 mol/L (0,36 N) de H₂SO₄ (1% v/v) et agiter vigoureusement.
- Vérifier la densité de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre avec un faisceau de 1 cm et des cuvettes assorties. L'absorbance à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13.
- Distribuer la suspension dans des tubes de même taille que ceux utilisés pour ajuster l'inoculum.
- Sceller les tubes. Une fois scellés, conserver ces tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Renouveler l'étalon ou vérifier son absorbance après 6 mois de conservation.
- Avant usage, mélanger vigoureusement le tube à l'aide d'un Vortex.
- Il convient de vérifier les étalons achetés dans le commerce en s'assurant que l'absorbance se situe dans les limites fixées.

Annexe 10 : Préparation des solutions du test Carba NP (CLSI, 2023)

➤ **Préparation d'une solution de sulfate de Zinc 10 mM**

1,4 g de sulfate de Zinc ($ZnSO_4$) a été pesée et ajouté à 500 mL d'eau distillée, le mélange a été bien homogénéisé et conservé à température ambiante

➤ **Préparation d'une solution de rouge de phénol à 0,5%**

- Une quantité de 1,25g de poudre de rouge de phénol a été pesée.
- Ensuite, la poudre a été ajoutée à 250 mL d'eau distillé.
- La solution obtenue a été mélangée, homogénéisée et conservée à température ambiante.

➤ **Préparation d'une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1 N)**

- 40 g NaOH solide a été incorporée dans 1000 mL d'eau distillée.
- La solution a été bien homogénéisée.
- Ajouter 20ml de cette solution à 180ml de l'eau distillée.

Annexe 11: Exemple d'un bulletin d'analyse bactériologique des sujets vivants

Date :10-12-2023

Bulletin d'analyse

Type d'analyse : .BACTERIOLOGIE

Propriétaire : POUSSIN MELKI BELLAT- AABDI 10

ADRESSE :TBESSA.

NATURE DE PRELEVEMENT : SUJETS VIVANTS.

RECHERCHE	TEST EFFECTUE	RESULTAT
ENTERO BACTERIES	CULTURE/ISOLE	NEGATIF
E. COLI	CULTURE/ISOLE	POSITIF
ANTIBIOGRAMME	COLISTINE	I
	FOSFOMYCINE	S
	FLORFENICOL	R
	SULFA-TRIMETHO	R
	AMOXYCILLINE	R
	DOXICYCLINE	R
	ERYTHROMYCINE	R
	AMPICYLINE	R
	ENRO	S
	AMPI	R