



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : des êtres vivants

### Mémoire de master

**Domaine:** des sciences de la nature et de la vie

**Filière:** sciences biologiques

**Option :** Microbiologie Appliquée à la Sante et l'Environnement

**Thème:**

Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches des  
*entérobactéries* isolée de fromage frais artisanale "Jben"

**Présenté par:**

*Badri Naoual*  
*Necib Takoua*

**Devant le jury:**

Mr Boukocha Mourad	<b>M.C.B</b> université de tebessa	Président
Mr Menasria Taha	<b>M.A.A</b> université de tebessa	Examineur
Dr Mechai Abdelbasset	<b>M.C.A</b> université de tebessa	Rapporteur

**Date de soutenance**

29 mai 2016

Note :..... Mention :.....



## ملخص

من بين منتجات الحليب المخمرة تقليديا يمثل الجبن المنتج الاكثر استهلاكا في الجزائر بفضل غناه بالمواد الغذائية.

من أجل دراسة حساسية البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية تم أخذ أربعة عينات " جبن " من الملبينات التقليدية بولاية تيسة.

خلال دراستنا تم التعريف بثلاثين عزلة بواسطة API20E، حيث احتل صنف *Enterobacter* المرتبة الأولى (37%)، متبوعا بـ *Serratia* (31%)، ثم *Klebsiella* (16%)، بعدها *Kluyvera* (10%)، لتأتي بعدها أيضا *Citrobacter* بنسبة (3%)، و *Salmonella* بنسبة (3%).

أظهرت نتائج اختبار الحساسية أن المضادات الحيوية الأكثر فعالية على سلالاتنا هي: كلورام فينيكول (90%) حمض ناليديكسيك (73%)، ثم الجونتاميسين و الأميكاسين بنسبة (87%).

في المقابل أعلى نسب المقاومة لوحظت تجاه المضادات الحيوية: سيفوكسيتين بنسبة (93%)، متبوعا بالأميسيلين بنسبة (90%)، ثم التيكارسيليكين والسيفتازيديم بنسبة (67%)، وأخيرا الإيميبينام بنسبة (53%).

عموما سلالات مجموعتنا تظهر مقاومة لجميع المضادات الحيوية المختبرة، ولكن بدرجات متفاوتة.

الكلمات المفتاحية: منتجات الألبان التقليدية، جبن، البكتيريا المعوية، المقاومة للمضادات الحيوية.

## Abstract

In Algeria, the Jben present among the traditionally fermented milk products, the most commonly consumed, by its high nutritional contents.

4 Jben samples taken from the traditional dairies in the city of Tebessa were the subject of this work, in order to investigate the antibiotic susceptibility of enterobacteria in this handicraft.

In our study, 30 isolates were identified by API20E. Thus, the genus *Enterobacter* occupies the first place (37%), followed by *Serratia* (31%), *Klebsiella* (16%), *Khuyvera* (10%), *Citrobacter* (3%) and *Salmonella* (3%).

The results of sensitivity testing has shown that the most active antibiotics on our strains are: chloramphenicol (90%), gentamycin and amikacin (87%), nalidixic acid (73%). In contrast, the highest resistance levels were observed against antibiotics cefoxitin (93%), ampicillin (90%), ticarcillin and ceftazidime (67%), imipenem (53%). Generally, our collection strains shows resistance to all antibiotics tested, but to varying degrees,

Keywords: traditional dairy products, Jben, Enterobacteriaceae, resistance to antibiotics

## Résumé

En Algérie, le Jben présente, parmi les produits laitiers fermentés traditionnellement, celui le plus fréquemment consommé, grâce à sa richesse en matières nutritionnelles.

4 échantillons de Jben prélevés à partir des laiteries traditionnelles de la ville de Tébessa, ont fait l'objet du présent travail, dans le but d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries dans ce produit artisanal.

Au cours de notre étude, 30 isolats ont été identifiés par l'API20E. Ainsi, le genre *Enterobacter* occupe la première place (37%), suivi de *Serratia* (31%), *Klebsiella* (16%), *Kluyvera* (10%), *Citrobacter* (3%), et *Salmonella* (3%).

Les résultats de l'antibiogramme ont montré que les antibiotiques les plus actifs sur nos souches sont : le chloramphénicol (90 %), la gentamycine et l'amikacine (87%), l'acide nalidixique (73%). A l'opposé, les taux de résistance les plus élevés sont observés à l'égard des antibiotiques : céfoxitine (93 %), ampicilline (90 %), ticarcilline et ceftazidime (67 %), imipénème (53%). Généralement notre collection de souches montre une résistance à tous les antibiotiques testés, mais à des degrés variables,

**Mots clés :** Produits laitiers traditionnels, Jben, Entérobactéries, résistance aux antibiotiques

## *Dédicaces*

*Je dédie cette thèse,*

*A tous ceux qui me sont proches et chers, mes parents, Pour leur soutien permanent dans mes études et dans ma Vie, leur confiance en moi, leur encouragements, et leur amour.*

*A mes frères et sœurs, pour leur support continu et leur amour.*

*Le plus Grand merci Dédicace à une personne Chère à mon cœur ma Sœur ☺ Takoua ☺ Merci et mille Merci.*

*Un merci particulier à ☺ Douane phYsic ☺*

*Et à toutes mes amies Nesrine, Sara, Ghalia, Zahra, .....*

*Naouel*

## *Dédicaces*

*Je dédie cette thèse,*

*A tous ceux qui me sont proches et chers, mes parents, Pour leur soutien permanent dans mes études et dans ma Vie, leur confiance en moi, leur encouragements, et leur amour.*

*A ma Fiancée, pour son affection, les sacrifices consentis tout au long de ce travail et pour son soutien sans faille.*

*Merci Tarek*

*A mes frères et sœurs, pour leur support continu et leur amour.*

*Le plus Grand merci Dédicace à une personne Chère à mon cœur ma Sœur ☺ Naouel ☺ Merci et mille Merci.*

*Un merci particulier à ☺ Ghaliya, Nesrine, Sara, Zahra ☺*

*Et à toutes mes amies*

*Takoua*

## *Remerciement*

*C'est grâce à Allah le miséricordieux qui nous a donné réservons nos remerciement, que l'aube du savoir à évacuer l'obscurité de l'ignorance et le soleil de la science à éclairer notre chemin pour obtenir à ce stade.*

*A notre prophète MOHAMED QUE DIEU LUI SALUT ET BENIR.*

*Nos remerciements chaleureux ne doivent exclure plusieurs ne que cette petite famille ne peut en contenir tous notamment*

*Notre encadreur Dr Mechai Abdel basset qui à nous suivi et dirigé tout au long de nos recherches et n'as pas manqué de nous aider par des orientations et des renseignements scientifiques.*

*Mes très spéciaux remerciements à DEBABZA Manal qui nous en conseillé et veillé notre progression et entraîné notre voie vers la réussite.*

*Nous remercions également les employés de la bibliothèque universitaire et du tous les techniciens de laboratoire.*

*Nous aussi remercier chaleureusement tous ceux qui nous enseigné durant nous années d'études. En particulier à Mr Boukocha*

*Mourad*

*Pour terminer nous souhaitions exprimer nos remerciements ainsi que nous respect à tout le personnel de l'institut universitaire de Tébessa.*



# **T**able Des

---

*Matières*

ملخص

Abstract

Résumé

Dédicaces

Remerciements

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des symboles

Introduction

I-Partie bibliographique

## Chapitre (I) : Les produits laitiers traditionnels

<b>Introduction</b> .....	
1. Le lait cru .....	01
1.1. Définition... ..	01
1.2. Composition physique et chimique du lait cru .....	01
1.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait .....	02
1.4. Microflore de lait .....	03
2. Les laits fermentés .....	05
3. Les produits laitiers traditionnels en Algérie .....	05
3.1. <i>Rayeb</i> .....	07
3.2. <i>L'ben</i> .....	07
3.3. <i>Klila</i> .....	07
3.4. LA beurre frais Zebda .....	08
3.5. <i>Dhan</i> .....	08
3.6. <i>Bouhezza</i> .....	08
3.7. <i>Lghaunane</i> .....	09
3.8. Le fromage frais " <i>Jben</i> " .....	09
3.8.1. Définition .....	09
3.8.2. Principes généraux de la technologie fromagère .....	10
3.8.3. Préparation de fromage frais .....	10
3.8.3.1. Production semi technologie .....	10
3.8.3.2. Procédure traditionnelle .....	11
3.8.4. Caractéristiques physiques et chimiques .....	12
3.8.5. La composition microbiologique du <i>JBEN</i> .....	12
4. Dangers liés à la consommation des produits laitiers traditionnels .....	13

## Chapitre (II) : Les entérobactéries

Introduction .....	15
1. Définition .....	16
2. Taxonomie .....	16
3. Habitat .....	16
4. Classification .....	16
5. Caractères cultureux .....	17
6. Caractérisation antigénique des espèces .....	18
7. Etude des principaux genres .....	19
7.1. <i>Escherichia</i> .....	19
7.2. <i>Shigella</i> .....	21
7.3. <i>Salmonella</i> .....	22
7.4. Les entérobactéries opportunistes .....	23
7.4.1. <i>Klebsiella</i> .....	23

7.4.2. <i>Enterobacter</i> .....	24
7.4.3. <i>Serratia</i> .....	25
7.5. Groupe des <i>Proteae</i> .....	25
7.5.1. <i>Proteus</i> .....	26
7.5.2. <i>Morganella</i> .....	26
7.5.3. <i>Providencia</i> .....	27
7.6. <i>Yersinia</i> .....	27

### **Chapitre (III) : Les antibiotiques et mécanismes de résistance**

1. Définition des antibiotiques.....	30
2. Mode d'action des antibiotiques.....	30
.....	
3. La résistance aux antibiotiques.....	32
3.1. L'origine génétique de la résistance et modalité de transfert génétique.....	32
3.1.1. Résistance naturelle.....	32
3.1.2. Résistance acquise .....	33
3.1.2.1. Mutation chromosomique (évolution verticale).....	33
3.1.2.2. Acquisition de gène de résistance (évolution horizontale).....	34
3.1.3. Résistance croisée et Co-résistance.....	36
4. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.....	36
5. La sensibilité aux antibiotiques .....	38
6. Les $\beta$ -lactamines.....	38
6.1. Généralités.....	38
6.2. Structure .....	38
6.3. Classification .....	39
6.3.1. Les pénicillines .....	40
6.3.2. Les Carbapénèmes .....	40
6.3.3. Les céphalosporines .....	40
6.3.4. Monobactames.....	42
6.4. Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines.....	42
6.4.1. Synthèse de peptidoglycane.....	42
7. Les aminosides.....	43
7.1. Définition .....	43
7.2. Classification des aminosides .....	43
7.3. Mode d'action des aminosides.....	44
8. Les quinolones .....	44
8.1. Définition .....	44
8.2. Classification des quinolones .....	45
8.3. Mode d'action des quinolones .....	45
<b>II-Partie expérimentale</b>	
I. Matériel et méthodes.....	
1. Objectif de l'étude .....	47
2. Lieu de l'étude.....	47
3. Matériels biologiques.....	47
4. Matériels non biologique .....	47
5. Echantillonnage .....	48
6. Isolement des bactéries .....	49
6.1. Etude macroscopique.....	50

6.2. Etude microscopique .....	50
7. Purification et conservation des isolats.....	50
8. L'identification biochimique des isolats .....	51
9. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques.....	52
<b>Résultats et discussion</b>	
1. Isolement et identification .....	56
1.1. Observation macroscopique des colonies .....	56
1.2. Observation microscopique des colonies.....	57
2. Identification spécifique des entérobactéries.....	57
3. L'antibiogramme .....	62
<b>Conclusion</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b>	<b>Flore microbienne du lait</b>	<b>02</b>
<b>Tableau 02</b>	<b>Composition chimique moyenne du lait de vache</b>	<b>04</b>
<b>Tableau 03</b>	<b>Présentation générale des factures des risques liés aux dangers d'origine microbienne</b>	<b>13</b>
<b>Tableau 04</b>	<b>Classification les principaux groupes des entérobactéries</b>	<b>17</b>
<b>Tableau 05</b>	<b>mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques</b>	<b>37</b>
<b>Tableau 06</b>	<b>Caractéristiques des échantillons prélevés</b>	<b>47</b>
<b>Tableau 07</b>	<b>Milieux sélectifs et conditions d'incubation pour recherche des germes de contamination</b>	<b>50</b>
<b>Tableau 08</b>	<b>Les antibiotiques utilisés dans notre étude</b>	<b>53</b>
<b>Tableau 09</b>	<b>Codes des isolats et leur milieu gélosé (GN)</b>	<b>56</b>
<b>Tableau 10</b>	<b>Les principaux caractères des différents types de colonies observées.</b>	<b>56</b>
<b>Tableau 11</b>	<b>Résultats de l'observation microscopique</b>	<b>57</b>
<b>Tableau 12</b>	<b>Résultats de la manipulation avec l'APIE 20</b>	<b>58</b>
<b>Tableau 13</b>	<b>La répartition totale des espèces obtenue après la manipulation par l'API 20E</b>	<b>61</b>
<b>Tableau 14</b>	<b>Résultat de l'antibiogramme</b>	<b>64</b>
<b>Tableau 15</b>	<b>Profil de sensibilité aux antibiotiques testés sur <i>Enterobacter cloacae</i>, <i>Enterobacter sakazakii</i>, et <i>Enterobacter arogenes</i></b>	<b>67</b>
<b>Tableau 16</b>	<b>Profil de sensibilité aux antibiotiques testés sur <i>Serratia liquefaciens</i>, <i>Serratia odorifera</i> 1, et <i>Salmonella arizonae</i></b>	<b>68</b>
<b>Tableau 17</b>	<b>Profil de sensibilité aux antibiotiques testés sur <i>Klebsiella terrigena</i>, <i>Klebsiella ornithinolytica</i>, <i>Kyuvera spp</i>, et <i>Citrobacter braakii</i></b>	<b>69</b>

## Liste de figure

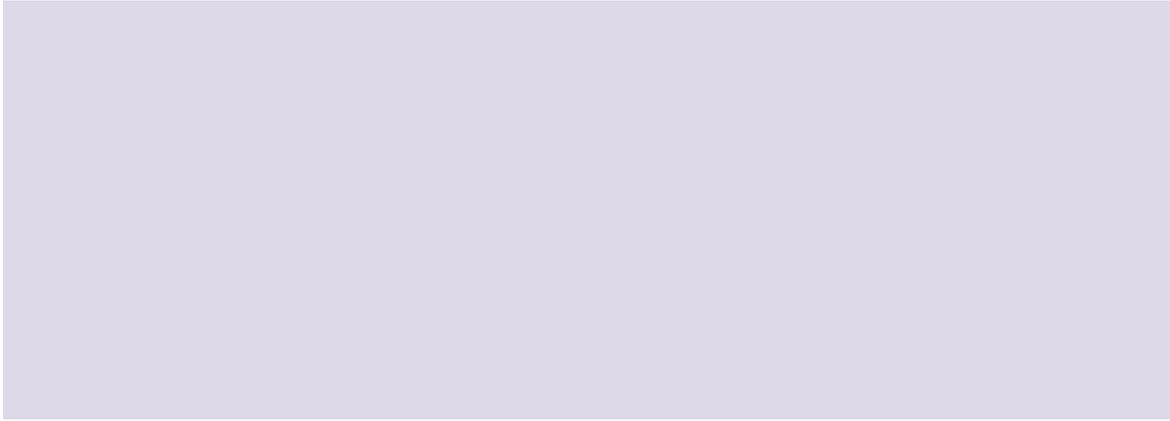
<b>Photo N°</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>Figure N°01</b>	<b>Schéma des méthodes de fabrication des principaux produits laitiers algériens</b>	<b>06</b>
<b>Figure N°02</b>	Les espèces végétales utilisées pour accélérer la coagulation du lait	<b>10</b>
<b>Figure N° 03</b>	<b>Cibles des principaux antibiotiques</b>	<b>31</b>
<b>Figure N°04</b>	Les trois mécanismes de transfert génétique	<b>36</b>
<b>Figure N°05</b>	<b>Structures de quelques <math>\beta</math>-lactamines</b>	<b>39</b>
<b>Figure N°06</b>	Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines	<b>43</b>
<b>Figure N°07</b>	<b>Méthode de fabrication des produits laitiers traditionnels.</b>	<b>48</b>
<b>Figure N°08</b>	Disposition des antibiotiques sur les boîtes d'antibiogrammes	<b>54</b>
<b>Figure N° 9</b>	<b>Illustration de l'identification par galerie API 20 E des entérobactéries isolées</b>	<b>60</b>
<b>Figure N° 10</b>	<b>Répartition de l'ensemble des souches des entérobactéries isolées du produit analysé</b>	<b>52</b>
<b>Figure N° 11</b>	<b>Profil de sensibilité des souches testé des entérobactéries aux antibiotiques</b>	<b>66</b>
<b>Figure N° 12</b>	Sensibilité aux ATB des isolats des entérobactéries (Photo prise au laboratoire de microbiologie, Département de Biologie, Université Cheikh Larbi Tebessi –Tebessa-,	<b>71</b>

### *Liste des symboles*

<b>D°</b>	Degré Dornic	<b>C°</b>	Degré Celsis
<b>H</b>	Heure	<b>R</b>	Résistante
<b>L</b>	Liter	<b>Kp</b>	<i>Klebsiella pneumoniae.</i>
<b>µm</b>	µ metre	<b>S</b>	Sensilble
<b>ADH</b>	Arginin D'hydrolase	<b>LAB</b>	Lactic Acid Bacteria
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique	<b>LAC</b>	Lactose
<b>ARN</b>	Acide Ribonucléique	<b>LDC</b>	Lysine Décarboxylase
<b>ADN<sub>AS</sub></b>	Désoxyribonucléase	<b>Lb</b>	Lactobacillus
<b>AmpC</b>	Bêta-lactamase chromosomique	<b>LPS</b>	Lipopolyscharide
<b>ARN<sub>m</sub></b>	ARN messenger	<b>LT</b>	Thermolabile
<b>ARN<sub>t</sub></b>	ARN De Transfert	<b>MH</b>	Muller Hinton
<b>API 20E</b>	Appareillage Et Procédé D'Identification	<b>MI</b>	Millilitre
<b>Aw</b>	Activité D'eau	<b>ODC</b>	Ornithine Décarboxylase
<b>CA-SFM</b>	Comité D'antibiogramme- Société Française De Microbiologie	<b>OMS</b>	Organisation Mondiale De La Santé
<b>DLC</b>	Date Limite De Consommation	<b>Ph-al-DA</b>	Phénylalanine désaminase
<b>D</b>	Diamètre 1	<b>Ph</b>	Potentiel d'Hydrogène
<b>d</b>	diamètre 2	<b>PLP</b>	Protéine De Liaison A La Pénicilline
<b>EPEC</b>	<i>E. Coli</i> Entéropathogène	<b>Sp</b>	espèce non précisée
<b>ETEC</b>	<i>E. Coli</i> Entérotoxigène	<b>Spp</b>	Espèce
<b>EHEC</b>	<i>E. Coli</i> Entérohémorragiques	<b>ST</b>	Thermostable
<b>EIEC</b>	<i>E. Coli</i> Entéroinvasifs	<b>SHU</b>	Syndromes Hémolytiques

			Urémiques
<b>FAO</b>	<b>Food And Agriculture Organisation</b>	<b>TDA</b>	<b>Tryptophane Désaminase</b>
<b>GN</b>	<b>Gélose Nutritive</b>	<b>TE</b>	<b>Tris EDTA</b>
<b>G</b>	<b>Gramme</b>	<b>UFC</b>	<b>unité formant cellule</b>
<b>HACCP</b>	<b>Hazard Analysis Critical Control Point</b>	<b>VP</b>	<b>Vogue Paskaeure</b>
<b>I</b>	<b>Intermediaries</b>		





# **I**ntroduction

---

## **Introduction**

Les produits laitiers traditionnels font partie du patrimoine national de chaque pays. Parmi ces aliments il y a les fromages traditionnels pour lesquels chaque variété apparaît comme le reflet fidèle de la région dont ils sont originaires, avec leurs ressources naturelles et leurs traditions. La grande tradition de la qualité fermière tend malheureusement à disparaître peu à peu. Le monde rural connaît une mutation profonde négligeant ainsi le devenir de ces produits (**Senoussi, A., 2013**).

En Algérie, les fromages traditionnels sont nombreux, non entièrement recensés et aussi peu étudiés. Environ dix types de fromages sont connus dans les différentes régions du pays (**Aissaoui, Z., et al., 2011**). La plupart de ces fromages, tel que Jben, Bouhezza, Medghissa et Mechouna, dans la région des Chaouia, Takemmèrite et Aoules dans le Sud, Igounanes dans la région de la Kabylie, sont en voie de disparition pour différentes raisons dont l'indisponibilité fourragère, l'exode rurale et le changement des habitudes alimentaires. Ainsi le nombre restreint de personnes intéressées par la fabrication traditionnelle ainsi que la perte du savoir faire traditionnel entraîne une irrégularité du goût et pose par la suite des difficultés dans la satisfaction des besoins des consommateurs. Pour cela, il conviendrait d'encourager leur fabrication en vue de les faire connaître et maintenir leur existence (**Senoussi, A., 2013**).

Le Jben est un fromage de terroir, connu depuis longtemps dans la région Chaouia de l'est du pays regroupant principalement les wilayas d'Oum El Bouaghi, Batna, Khenchla et Tebessa. C'est le produit de transformation du lait de chèvre et de brebis. Toutefois, la tendance actuelle semble s'orienter vers l'utilisation du lait de vache (**Mechai, 2009**).

Ce fromage a déjà fait l'objet de d'études scientifiques parce que le Jben parmi les produits Algérienne, et considère comme le produit laitier traditionnel artisanale dont le mode de fabrication découle de l'héritage culturel de la population, est consommé soit tel qu'il est, ou après un séchage afin de prolonger sa durée de conservation (**Benkerroum et al., 2004**). Il contient une microflore variée

Soit la flore originelle et ou la flore pathogène comme les *entérobactéries*.

Les *Enterbacteries* opposent une résistance naturelle à quelque type des antibiotiques et cette résistance naturelle définit de phénotype dit sensible ou sauvage.

## *Introduction*

L'objectif global de ce travail est :

- de rechercher les entérobactéries dans ce produit artisanal
- D'étudier la sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques

Notre manuscrit comporte trois parties en premier, l'étude bibliographique, une deuxième concerne le matériel et méthode appliquée suivie par les résultats enregistrés et leurs interprétations avec illustrations statistiques.

Nous terminons par discussions relatant la comparaison de nos résultats aux travaux d'autre auteur. Enfin cette partie se termine par une conclusion et des perspectives.

# Partie 1

---

*Synthèse bibliographique*

# **C**hapitre 1

---

*Les produits laitiers Algériens*

## **I- Le lait cru**

### **I.1.1 Définition :**

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, Il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes, en particulier les bactéries pathogènes (**Chye et al., 2004**). Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance correspond au lait de vache (**Larpent et al., 1997**).

Le lait apparaît comme un liquide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon sa teneur en  $\beta$ -carotènes et en matière grasse, il a une odeur peu marquée mais reconnaissable (**Cniel, 2006**). Et au goût douceâtre, sécrété, après parturition par la glande mammaire des animaux mammifères femelles pour le nouveau-né, comme il s'avère très bénéfique pour l'adulte (**Marcel, 2007**).

### **I.1.2 Composition physique et chimique du lait cru :**

Le lait est un substrat très riche, fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (**Larpent, J.P. 1997**). Il contient une forte proportion d'eau environ 87%. Le reste est représenté par l'extrait sec (environ 130g par litre). Les principaux constituants de cet extrait sec les lipides, les glucides, les protides, les vitamines et les éléments minéraux ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Cl}^-$ ) (**Vimahieu, 2005**).

Le lait contient également des anticorps, des hormones et peut parfois contenir des résidus d'antibiotiques (**Vilain, 2010**), il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes, en particulier les bactéries pathogènes (**Chye et al., 2004**).

L'aptitude d'un lait à la transformation fromagère est étroitement liée à la nature de ses constituants. Il faut noter l'importance de l'eau et la valeur modeste de la matière sèche totale. Plus cette dernière sera élevée, plus le lait sera riche et meilleur (Tableau 01).

Tableau N°01 : Composition chimique moyenne du lait de vache (Goursaud, 1985)

Composant	g / l	Extrêmes
<b>Eau</b>	902	
<b>Glucides lactose</b>	49	40 – 60
<b>Matières grasses</b>	39	25 – 45
-Lipides	38	
-Phospholipides	0,5	
-Composés liposolubles	0,5	
<b>Matières azotées</b>	33	25 -40
-Caséines	28	
-Protéines solubles	4,7	
-Azote non protéique	0,3	
<b>Matières salines</b>	9	7-10
<b>Biocatalyseurs (vitamines, enzymes)</b>	Traces	
<b>Gaz dissous</b>	≤ 5% du volume	
<b>Matières sèches totale</b>	130	
<b>Poids total</b>	1032	

Le lait de vache a été considéré comme un aliment de base dans de nombreux régimes alimentaires. C'est une boisson saine puisque sa consommation est associée à une alimentation de qualité. Il fournit une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels : des minéraux, des vitamines et des protéines faciles à digérer. Il est par conséquent essentiel à l'ensemble des fonctions du corps (Steijns, 2008). Avec les céréales, les viandes, les légumes et les fruits, les produits laitiers sont considérés comme des aliments riches en nutriments, ils fournissent de nombreux éléments nutritifs à teneur relativement faible en énergie et indispensables à la santé tout au long du cycle de vie (Drewnowski, 2005 ; Miller *et al.*, 2007).

### I.1.3 Caractéristiques physico-chimiques du lait :

Le lait est un liquide blanc mat, légèrement visqueux, dont la composition et les caractéristiques physico-chimiques varient sensiblement selon les espèces animales, et même selon les races (Rahali et Ménard, 1991; Soryal *et al.*, 2004).

Ces caractéristiques varient également au cours de la période de lactation, de la traite ou de l'allaitement. Elles sont aussi tributaires de la nature de l'alimentation des animaux (Coulon

*et al., 1995*). Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées par sa densité, son point de congélation, son point d'ébullition et son acidité. Sur le plan physique, c'est à la fois une solution (lactose, sels minéraux), une suspension (matières azotées) et une émulsion (matières grasses). Son pH est légèrement acide (pH compris entre 6,5 et 6,8 pour le lait de vache et entre 6,2 et 6,82 pour le lait de chèvre). Par contre, il est légèrement basique pour le lait humain (pH compris entre 7 et 7,5), l'acidité du lait augmente avec le temps suite à la transformation du lactose en acide lactique. Cette acidité permet d'avoir un indicateur du degré de conservation. Pour cela, on utilise le degré Dornic (°D) (**Hebboul et al., 2005 ; Dillon, 2008**).

#### **I.1.4 Microflore de lait**

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml) (**Larpen, 1997**). Il contient un nombre variable de cellules celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des microorganismes contaminants (**Gripon et al., 1975**).

Le lait dans les cellules du pis est stérile (**Tolle, 1980**), mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (**Ménard et al., 2004**). Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite ; selon Betsi *et al.*, (1997) In Chaouch et Tebichek (2001) ils peuvent être classés dans les flores suivantes (Tableau 02)

- **Flore originelle**

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (**Cuq, 2007**).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. (**Vignola, 2002**).

Le lait contient essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores: Microcoques, Streptocoques lactiques et lactobacilles (**Guiraud, 1998**).

• Flore contaminante

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

La présence des micro-organismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'Homme, l'environnement. Les principaux micro-organismes pathogènes (tableau 02) associés aux produits laitiers sont : *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yarsinia enterocolitica*, *Listria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella sonei* et certaines moisissures (Guiraud, 2003).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : *Streptococcus pyogenes*, *Corynebactérium pyogenes*, *staphylocoques...* etc. (FAO, 1995).

• Flore psychrotropes

Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacteres*, *Clostridium*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* (tableau 02) qui se développent à une température de 3 à 7°C (Hicks et al., 1985; Jooste et al., 1985 in Leveau et Bouix, 1993). *Listeria monocytogenes* capable de se multiplier à une température comprise entre 0°C et 10°C est qualifiée de ce fait de psychrotrophe (Rosset, 2001).

Tableau N°02 : Flore microbienne du lait (Leyral et Vierling, 2001)

Flore originelle		Flore de contamination	
Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
Lactobacilles streptocoques lactiques	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> Enterbacteries, <i>Microcoques</i> Corynébactéries, <i>Bacillus</i> <i>Streptocoques faecalis</i> et <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> , <i>Coliformes fécaux</i> <i>Salmonella</i> , <i>Yersinia</i> et <i>Campylobacter</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Brucella</i> et <i>Listeria</i>

**2-Les laits fermentés :** Les laits fermentés sont des produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et à la gélification du lait. Divers types de produits laitiers fermentés existent à travers le monde (**Tamime, 1997 ; Stanely, 1998**). Leur nature dépend du type de lait utilisé, le prétraitement, les conditions de fermentation et le traitement ultérieur. La fermentation du lait implique principalement les bactéries lactiques (LAB), mais les *Micrococcus*, les corynéformes, les levures et les moisissures peuvent également jouer un rôle (**Zamfir et al., 2006**).

Historiquement, les produits laitiers fermentés ont été produits pour prolonger la durée de conservation du lait. Ces aliments traditionnels ont persisté au cours des siècles et ils ont souvent évolué d'un niveau artisanal et traditionnel à la fabrication à grande échelle industrielle avec production utilisant des cultures spécifiques (starter) et équipements modernes (**Cogan, 1996 ; Oberman, 1998**). L'utilisation de starters a amélioré la qualité technologique des produits laitiers, mais en même temps, a limité leur biodiversité ainsi que les caractéristiques organoleptiques et la variabilité du produit fini (**Wouters, 2002 ; Leroy, 2004**). Par conséquent, il existe une demande croissante en nouvelles souches pouvant avoir des caractéristiques recherchées au niveau du produit fini.

En effet, la fermentation du lait par des microorganismes particuliers induit des changements dans le goût, la texture, la couleur, la saveur, et les propriétés nutritives du lait. Elle fournit toute une gamme de produits finis (**Duboc et al., 2001**). C'est un moyen peu coûteux et une technologie qui préserve les aliments, améliore leurs valeurs nutritives et améliore leurs propriétés sensorielles (**Marty et Kummar, 1995 ; Steinkrauss, 1996**). Elle peut également conduire à la désintoxication, la destruction d'éléments indésirables présents dans les aliments crus comme le cyanure, les tanins et les polyphénols (**Blandino et al., 2003**) et aussi à la dégradation du lactose (**Fox et Thomson, 2007 ; Schaafsma, 2008**). De plus, les laits fermentés ont un effet bénéfique sur la santé humaine (**Oberman, 1998 ; Von Wright, 1998**). Ils sont en effet utilisés comme ferments lactiques pour remédier aux troubles gastro-intestinaux (**Rastall et al., 2005**). Les produits laitiers fermentés traditionnellement ont une part très importante dans l'alimentation quotidienne des gens de différents pays.

### **I.3. Les produits laitiers traditionnels en Algérie**

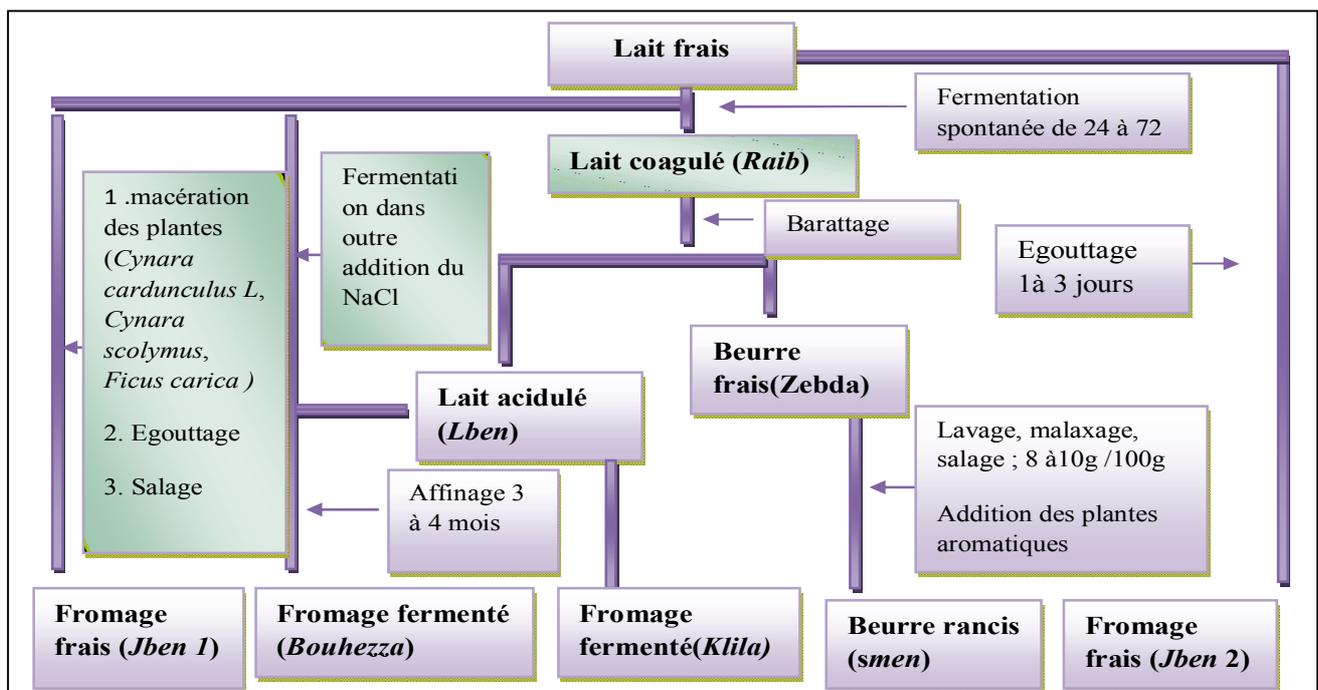
Les produits laitiers traditionnels algériens ont été peu caractérisés. Ils sont cousins de produits laitiers largement consommés dans beaucoup de pays méditerranéens et subsahariens. En Algérie, laits fermentés et fromages sont fabriqués traditionnellement le plus

souvent par les femmes à la maison et servent à l'autoconsommation; le surplus pouvant être vendu (Bendimerad, 2013).

Plusieurs produits traditionnels sont en voie de disparition pour différentes raisons dont la non disponibilité fourragère, l'exode rural et le changement des habitudes alimentaires (Bendimerad, 2013). Ceux dont l'usage est le plus répandu, comme le Rayeb et le Jben, tout en gardant le même nom, changent de procédé technologique du fait de leur industrialisation (Benkerroum et Tamine, 2004).

L'Algérie a une tradition bien établie sur les produits laitiers, transmise d'une génération à une autre, qui a un aspect important de la culture algérienne. Le lait, abondant durant certains moments de l'année, est facilement périssable et difficile à conserver, surtout dans les zones à climat très chaud dans n'importe quelle culture, il a été toujours traité pour augmenter sa durabilité et sa valeur nutritive pour une consommation domestique et au même temps permettre la commercialisation du surplus (Bencharif, 2001).

La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles (Takahiro *et al.*, 2007; Shanna *et al.*, 2011). La transformation du lait en produits laitiers traditionnels algériens, tels que *Raib*, *Lben* et *Jben* (Figure 01) est réalisée via une fermentation spontanée sans l'ajout d'une entrée sélectionnée (Badis *et al.*, 2004).



**Figure 01 :** Schéma des méthodes de fabrication des principaux produits laitiers algériens (lahsaoui, 2009). Les produits laitiers traditionnels algériens importants qui ont la signification commerciale sont *Rayeb*, *Bouhezza*, *Lben*, *Klila*, *Zebda*, *Dhan* et *Jben*

Le Raib (ou Rayeb) est un lait caillé, traditionnellement obtenu après acidification spontanée à température ambiante de lait cru durant une période variant de 24 h à 72 h selon la saison. (Mechai *et al.*, 2014 ; Bendimerad, 2013)

### **I.3.2. Lben**

Le *Lben* est fabriqué à partir de lait de vache, brebis et de chèvre, le lait subit une acidification spontanée par sa flore originel jusqu'à coagulation. Le caillé obtenu est introduit dans la Chekoua ou le Zeer ou il subit une forte agitation ou barattage.

En Algérie, le *Lben* entre dans la fabrication de différents fromages traditionnels tels que *Bouhezza* et *Klila*.

La composition chimique du « *Lben* » est variable, elle dépend des localités, des régions, des fermes, de la composition chimique du lait cru de départ et de la procédure de fabrication (El Baradei *et al.*, 2008). Néanmoins, certains indicateurs donnent une idée sur la qualité globale du produit et le processus de sa fabrication. La fermentation du lactose augmente l'acidité titrable dans le « *Lben* » à plus de 0.60 % d'acide lactique, par conséquent le pH et le lactose baissent respectivement au dessous de 4.7 et 3.7 g 100g<sup>-1</sup>. L'extraction du beurre diminue le contenu en lipides à environ 1.8 g.100 g<sup>-1</sup> (Benkerroum *et al.*, 1984).

La fermentation du citrate dans le lait génère des composés carbonés volatiles (acétaldéhyde, acétoïne et diacétyl). On rapporte aussi la présence d'éthanol dans le « *Lben* », c'est un élément qui confère un arôme typique au produit, pourtant, sa concentration est trop faible pour donner un goût alcoolique au produit.

### **I.3.3. Klila**

C'est un fromage ferment produit empiriquement dans plusieurs régions de l'Algérie, il est fabriqué par un chauffage relativement modéré (55 à 75°C) du *Lben* jusqu'à ce qu'il est caille (10 à 15 min). Le caille est ensuite égoutté spontanément ou pressé à l'aide d'une pierre, le fromage obtenu est consommée tel qu'il est frais au après un séchage il est utilisée comme un ingrédient après réhydratation dans les préparations culinaires traditionnels (Mennane *et al.* 2007). Il peut être conservé plusieurs années à température ambiante, dans des jarres en poterie ou en verre ou des sacs en peau de chèvre/mouton. C'est un fromage similaire au Jameed au Moyen-Orient et au Chhana en Inde (Lahsaoui, 2009).

#### **I.3.4. LA beurre frais *Zebda***

En Algérie les fermiers fabriquent du beurre en utilisant une méthode traditionnelle. Le beurre frais *Zebda* est obtenu après barattage du Lait fermenté *Raïb*. Occasionnellement augmenté d'une quantité d'eau tiède (40-50 °C) à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules lipidiques et accroître le rendement en beurre. Les globules gras apparaissant en surface, à la suite du barattage, sont séparés par une cuillère perforée. Le beurre frais obtenu présente une consistance molle du fait de la forte concentration en eau. Le surplus de beurre produit est transformé en beurre rancie *Smen* par lavage du beurre frais à l'eau tiède, saumurage, puis salage à sec (saupoudrage à la surface ; 8-10g/100g) **(Benkerroum et Tamine, 2004)**.

#### **I.3.5. *Dhan***

Un beurre traditionnel est fabriqué à partir du lait de vache non pasteurisé. Tout d'abord, le lait est laissé à température ambiante jusqu'à ce qu'il s'acidifie. Une agitation manuelle est utilisée dans une peau de chèvre jusqu'à la séparation de la crème au lait écrémé, pendant l'agitation d'une petite quantité d'eau fraîche est ajoutée. Cette eau permet de rassembler les globules gras. Cette agitation dure quelques dizaines de minutes. Les matières grasses sont collectées et elles représentent le beurre **(Bettache et al., 2012)**.

#### **I.3.6. *Bouhezza***

C'est un fromage fermier fermenté à égouttage spontané, préparé à l'origine à partir de lait de chèvre et éventuellement de brebis mais actuellement il est préparé à partir du lait de vache, il est très répandu dans l'est algérien plus précisément dans les régions d'Oum Bouaghi, Khenchela, et dans certaines régions de Batna **(Mekentichi, 2003)**. Le salage, l'égouttage et l'affinage du Bouhezza sont réalisés simultanément dans une «Chekoua», préalablement traitée aux tannins pendant 3 à 4 mois. Au stade de la consommation le fromage est pétri avec incorporation de poudre de piment rouge, ce qui lui donne une caractéristique particulière **(Aissaoui et al., 2006)**.

### **I.3.7. Lghaunane**

Fromage fabriquée en Kabylie à partir du colostrum, la préparation se fait dans des ustensiles en terre cuite enduits d'huile d'olive dans lesquels est versée une petite quantité d'eau salée, puis le lait est chauffé et coagulé. Le caillé formé est découpé puis consommé tel quel (**Lahsaoui, 2009**).

### **I.3.8. Le fromage frais "Jben"**

#### **I.3.8.1. Définition**

Selon la norme du Codex Alimentarius et la norme internationale FAO/OMS, le fromage frais ou non affiné est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après fabrication. Aux termes de la réglementation française, la dénomination «fromage» est réservée à un produit fermenté ou non, obtenu par coagulation du lait, de la crème ou de leur mélange, suivie d'égouttage. Tous les fromages frais ont une DLC de 24 jours (**Luquet et Corrieu, 2005**).

Le « Jben » est le fromage frais le plus consommé et le plus connu depuis longtemps aussi en Algérie bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Actuellement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le «Jben» à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. (**Benkerroum et Tamime 2004**).

Le *Jben* obtenu par coagulation enzymatique (présure extrait à partir de la caillette de veau) ou par des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynara cardunculus L*), d'une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou d'artichaut (*Cynara scolymus*), ou du latex de figuier (*Ficus carica*) (**Bendimerad, 2013**) (Figure 02).

Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette bovine est macéré dans le lait. Après coagulation du lait et égouttage, le caillé ainsi obtenu peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques (**Abdelaziz et Ait Kaci, 1992**).



(a) : *Cynara humilis*



(b) *Cynara cardunculus L*



(c) *Cynara scolymus*



(d) *Ficus carica*

---

**Figure (02) :** Les espèces végétales utilisées pour accélérer la coagulation du lait  
<http://chhiwatsihame.over-blog.com/>,[http://www.biopix.dk/artiskok-cynara-scolymus\\_photo-27465.aspx](http://www.biopix.dk/artiskok-cynara-scolymus_photo-27465.aspx),[http://www.floradecanarias.com/cynara\\_cardunculus.html](http://www.floradecanarias.com/cynara_cardunculus.html)

### I.3.8.2.Principes généraux de la technologie fromagère

Le fromage a une longue tradition dans l'alimentation humaine. Autrefois, il s'agissait principalement d'une forme concentrée de lait qui avait l'avantage d'avoir une durée de conservation prolongée (Walther *et al.*, 2008), obtenues grâce au jeu croisé de l'élimination plus ou moins poussé de l'eau du lait et de la récupération des matières sèches. Selon (Brule *et al.*, 1997).

### I.3.8.3.Préparation de fromage frais

#### I.3.8.3.1 Production semi technologie

Le fromage frais commercialisé est fabriqué soit à partir du lait de vache ou du lait de chèvre. Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles: La maturation, la coagulation et l'égouttage (Randazo *et al.*, 2009).

- **la maturation** : c'est l'incubation du lait cru à température ambiante pendant un temps variable de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait.
- **La coagulation** : c'est une opération qui vise à coaguler le lait au moyen de la présure (emprésurage) ou de toute autre enzyme coagulante. L'activité coagulante est déterminée par la force de présure, la température du lait et son acidité. Après l'emprésurage, le lait est abandonné au repos à température ambiante pendant 6 à 10 heures. Il va prendre en masse (caillage) avec une consistance plus ou moins ferme selon le degré d'acidité développé. En réalité, le coagulum est obtenu par deux modes de coagulation : la coagulation dite lactique et

celle engendrée par l'action de la présure. Ces deux modes ont une action simultanée sur le lait avec cependant une prédominance plus ou moins marquée de l'un ou l'autre selon que le fromager souhaite obtenir une pâte à caractère plus présure ou à caractère plus lactique.

- **L'égouttage** : un des buts essentiels de cette opération est de régler la teneur en eau du fromage. Il permet l'élimination de la plus grande partie du sérum qui imprègne le coagulum. L'égouttage est amorcé dans des moules qui confèrent au fromage sa forme. La nature du gel influe sur la conduite de l'égouttage. Un gel lactique subit un égouttage spontané et le caillé a par conséquent une forte humidité. Cependant, un gel présure est un gel compact, solide ou 10 l'égouttage ne peut avoir lieu qu'après certaines interventions telles des actions mécaniques de pression. Suivant le goût du fromager, le salage peut être fait. C'est une opération importante dans la fabrication des fromages. Elle a des effets multiples : elle améliore l'égouttage en le complétant, elle oriente et sélectionne le développement microbien et relève la saveur de la pâte (**Benkerroum et Tamime ,2004**). Ce type de fromage est très apprécié par les consommateurs et pourraient être promus à l'échelle nationale et internationale, si elle sera fabriquée sur une grande échelle en respectant leurs caractéristiques organoleptiques, car il a un goût salé, légèrement acide et agréables propriétés organoleptique (**Mennane et al., 2007**) .

#### **I.3.8.3. 2. Procédure traditionnelle :**

Le Jben C'est un fromage frais, traditionnel dans le Nord algérien. Cette dénomination regroupe des trajectoires technologiques très différentes, aboutissant à des produits aux caractéristiques très variées.

Dans les procédures traditionnelles de préparation du *Jben*, le lait est tout d'abord filtré afin d'éliminer les impuretés grossières qu'il peut contenir, puis il est abandonné à lui même dans une outre de peau de chèvre ou dans une jarre en terre cuite, pendant une durée de 24 à 48h, en fonction de la saison, à température ambiante. Après coagulation du lait, on procède à l'égouttage du coagulum qui est versé dans des sacs de toile fine. Ces sacs sont ensuite suspendus pour laisser s'échapper le lactosérum à température ambiante. La durée de l'exposition du caillé à l'air dépend de la consistance de la pâte désirée et généralement, la pâte obtenue est purement lactique, elle est souvent mal soudée et très humide (**Mechai, 2009**).

#### I.3.8.4. Caractéristiques physiques et chimiques du Jben

Le fromage frais « *Jben* » ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (Salmeron *et al.*, 2002). Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (Poznanski *et al.*, 2004) .

Généralement, Le pH (< 4,2) et l'acidité titrable (> 0,9 %) sont les paramètres les moins variables du « *Jben* ». Cependant, les matières solides totales du « *Jben* » sont le facteur le plus variable car ce dernier dépend de la durée d'égouttage. Étant donné que les lipides, le lactose et les protéines constituent les principaux composants de l'ensemble des matières solides en « *Jben* », ils sont directement influencés par les variations des dites matières solides (Benkerroum et Tamime, 2004).

#### I.3.8.5. La composition microbiologique du Jben

Elle dépend de celle du lait de départ, du processus de fabrication qu'il a subi et de l'âge du fromage (Ercolini *et al.*, 2009). Généralement, elle est dominée par :

- **Les bactéries lactiques :** En l'occurrence les *Lactococcus* et les *Enterococcus* qui influencent les caractéristiques sensorielles du produit fini (Randazzo *et al.*, 2009). La microflore du « *Jben* » est dominée par les bactéries lactiques ( $10^8$  -  $10^9$  ufc.g<sup>-1</sup>) qui sont principalement représentées par *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. mesenteroides* subsp. *Lactis* et *Lb. casei* subsp. *casei* (Hamama, 1997).
- **Levures et moisissures :** Les dénombrements des Levures et moisissures peuvent dépasser  $10^6$  ufc.g<sup>-1</sup>. Bien que les levures dans le « *Jben* » ne soulèvent pas d'inquiétude pour la sécurité du produit, leur nombre élevé dans le produit est associé avec les principaux défauts du produit, tels que l'aspect visqueux, la décoloration et la forte odeur d'alcool. Néanmoins, à des niveaux modérés, les levures peuvent contribuer à la saveur du produit. Les coliformes et les entérocoques ont été également signalés à des nombres dépassant  $10^5$  ufc.g<sup>-1</sup> (Benkerroum et Tamime, 2004).

#### I-4 Dangers liés à la consommation des produits laitiers traditionnels

Les microorganismes pathogènes les plus redoutables (Tableaux 03) trouvés dans le lait et les produits laitiers sont : *Staphylococcus* à coagulas positive, les entérobactéries comme : *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* et *Shigilla* (cref ,2002).

**Tableaux 03: Présentation générale des factures des risques liés aux dangers d'origine microbienne (Benkerroum, 2013).**

	Facteurs de risque		Facteurs de sécurité	Actions correctives
	<i>Contamination microbiens</i>	<i>Mycotoxines</i>		
<b>Produits laitiers</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lait cru contaminer</li> <li>- Mauvaise conditions de fabrication et de manipulation</li> <li>- Occasion aux pathogènes pour Se croitre et produire de toxines au cours de la fabrication et le stockage</li> <li>Eau contaminée fournie</li> <li>D'habitude prêt à la consommation</li> <li>-Degré élevé d'exposition</li> <li>-Absence d'application de programmes de contrôle de qualité.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Lait contaminé (mycotoxines à partir de l'alimentation)</li> <li>-Contamination et croissance de moisissure productrices de toxines au produit finale ou au cours de stockage</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Fermentation lactique</li> <li>-Prédominance Des micros organismes sures ou bénéfiques</li> <li>-Faible activité d'eau</li> <li>-Addition d'herbés et d'épices</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Donner l'importance vétérinaire aux troupeaux (contrôle des mammites) HACCP (de la ferme jusqu'au stockage)</li> <li>Utilisation des cultures starters (fermentation contrôlée) avec activités anti microbiennes (ex : utilisation Des bacteriocines produits par des cultures starters</li> <li>Minimiser l'exposition des produits laitiers à l'environnement</li> </ul>

# **C**hapitre 2

---

*Les entérobactéries*

### II.1.Définition

La famille des entérobactéries comprend d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces. Ce sont des bacilles à Gram négatif, immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche. Ils sont aéro-anaérobies facultatifs et se développent sur milieu ordinaire. Ils sont dépourvus d'oxydase et ont la faculté de fermenter le glucose, mais aussi de réduire les nitrates en nitrites. Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis, comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases) ([https://doc.rero.ch/record/4188/files/1\\_these\\_MirabaudMI](https://doc.rero.ch/record/4188/files/1_these_MirabaudMI)).

### II.2.Taxonomie

Les entérobactéries appartiennent au règne des Bacteria, à l'embranchement des *Protéobacteria*, à la classe des Gamma-protéobacteria à l'ordre des *Enterobacteriale* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Leur classification est basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfures, présence ou absence de certains enzymes du métabolisme et ou génotypiques (ribotypage, hybridation ADN/ADN). Les entérobactéries qui intéressent la bactériologie médicale peuvent être regroupées en 4 tribus *Escherichia*, *Klebsiellae*, *Proteae* et *Yersinia* (Denis, 2007).

### II.3.Habitat

Les Entérobactéries sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène, soit à l'état de commensaux. Mais cette localisation digestive n'est pas exclusive (Drame, 2001). On les retrouve également dans l'environnement (sols, eau) où ils participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement (Gueye, 2007).

### II.4. Classification

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*.

Cette classification est résumée dans le tableau suivant :

**Tableau N° 04 les principaux groupes des entérobactéries (Perriere, 1992).**

Groupes	Familles	Genre	Espèces
GROUPE I	<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>S. paratyphi</i> <i>S. enteritidis</i>
GROUPE II	<i>Escherichiea</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
	<i>Levineae</i>	<i>Levinea</i>	
GROUPE III	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxymore</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogen</i> <i>Enterobacter cloaceae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
GROUPE IV	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
GROUPE V	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i>

## II.5. Caractères cultureux

Les entérobacteriaceae se développent bien dans un bouillon ou sur gélose ordinaire incubé 18 heures à 37°C. Sur gélose, on peut obtenir différentes forme

- Les formes S (smooth) sont l'aspect habituel au sortir de l'organisme. Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides elles ont 2 à 4 mm de diamètre.
- Les formes R (rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate.
- En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.
- Les colonies rugueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10 mm ; elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, notamment *Salmonella paratyphi B*.

- Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leur chaîne métabolique. Elles ne sont pas exceptionnelles chez *Escherichia coli* isolé d'infections urinaires (Avril *et al.*, 2000) .

#### **I.6.Caractérisation antigénique des espèces**

L'identification des entérobactériaceae se fait par l'étude des caractères biochimique. La détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont l'identification est certaine. Toute autre façon de faire ne peut qu'entraîner des erreurs du fait d'agglutinations croisées non spécifiques (Avril *et al.*, 2000).

- **Antigènes O**

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou l'acide.

Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation.

La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée (Avril *et al.*, 2000).

- **Antigènes H**

Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.

Les réactions d'agglutination se produisent et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation. (Avril *et al.*, 2000) .

- **Les Antigènes K**

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharide. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E. coli* et l'antigène Vi de certain *salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O ils sont détruits par une ébullition de 2 heures.

Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99) (Avril *et al.*, 2000).

- **L'antigène K99**

Cet antigène commun des *Enterobacteriaceae* n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique (Avril *et al.*, 2000).

## **II.2. Etude des principaux genres**

### **II.2.1 *Escherichia coli***

- **Définition**

*Escherichia coli*, isolée par Escherich en 1885, est l'espèce type du genre *Escherichia* qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est un Bacille à Gram négatif, assez grand ( $1-1.5 \times 2-6 \mu\text{m}$ ), aéro-anaérobie facultatif, oxydase négatif, nitrate positif et qui fermente le glucose.

*Escherichia coli* (colibacille) est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole (Jerome *et al.*, 2004). Il se développe entre 10 et 48°C à pH 5,5- 9 et a une Aw supérieure à 0,94 (Monfred et Moll, 2002).

- **Habitat**

*E. coli* est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux (Sutra *et al.*, 1998). Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de  $10^8$  par gramme de fèces (flore totale  $10^{11}$  à  $10^{12}$  bactéries par gramme) (Paul, 2005).

- **Pouvoir pathogène**

Une bactérie commensale, quelle que soit son espèce, peut acquérir certains facteurs de pathogénicité grâce à l'apport d'un nouveau support générique (plasmide, bactériophages, transposons) ou par l'expression de gènes précédemment silencieux, et devenir ainsi pathogène (Germani, 1994).

Parmi les bactéries pathogènes qui peuvent se retrouver dans le lait cru, certaines y sont habituellement à un très faible niveau et ont peu de chance de s'y développer. D'autres sont à des niveaux appréciables et peuvent se multiplier. C'est le cas, entre autres, d'*E. coli* qui

provient généralement de la peau des mamelles (**Richard et Braquehaye, 1985**). Cette bactérie d'origine fécale peut survivre sur un sol souillé. Son implantation dans le matériel de traite est inhabituelle. Certaines souches, heureusement rarement présentes, lorsqu'elles sont à un haut niveau dans le lait cru ou dans les fromages, peuvent produire des gastro-entérites dues à la production de toxines.

a. Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes)

Par pénétration par voie urétrale ascendante (contiguïté) dans l'arbre urinaire, à l'origine de cystite (infection limitée à la vessie, sans fièvre) et de pyélonéphrite (infection du rein avec fièvre et bactériémie). La pénétration des colibacilles dans l'arbre urinaire est favorisée chez la femme par la brièveté de l'urètre. Leur persistance est favorisée par (1) la présence de pili ou fimbriae (adhésine) à la surface des bactéries pour lesquels il existe des récepteurs à la surface des cellules épithéliales urinaires et (2) toute anomalie fonctionnelle de l'arbre urinaire (stase, obstacle, reflux...). *E. coli* est responsable des trois-quarts des infections urinaires spontanées en pratique de ville (**Jaureguy, 2009**).

b. Certaines souches de colibacilles ont un pouvoir entéropathogène intrinsèque par acquisition

✚ Les *E. Coli* entéropathogène (EPEC) sont associés aux épidémies de diarrhée infantile. Ils peuvent, selon les souches, produire des toxines ou envahir les cellules épithéliales ou intestinales. Cliniquement, la maladie est caractérisée par de la fièvre, des vomissements, des douleurs abdominales et une importante diarrhée, accompagnée de grande quantité de mucus dans les selles et un peu de sang (**Leclerc, 1993**).

✚ Les *E. Coli* entérotoxinogène (ETEC) sont caractérisés par la production d'une ou deux toxines, l'une thermolabile (LT), l'autre thermostable (ST). La maladie est caractérisée par une diarrhée aqueuse accompagnée de douleurs abdominales, de malaises et de nausées. Les ETEC sont aussi des agents reconnus de la diarrhée du voyageur (**Leclerc, 1993**). La dose infectieuse pour les ETEC est élevée  $10^8 - 10^{10}$  (**Mehlman, 1976**).

✚ Les *E. Coli* entéroinvasifs (EIEC) sont caractérisés par des signes de toxémies avec malaise et fièvre. Les EIEC prolifèrent dans les tissus épithéliaux de l'intestin jusqu'à

provoquer des nécroses (**Leclerc, 1993**). La dose infectieuse pour ce pathovar est, elle aussi, importante  $10^6$  - $10^8$  (**Mehlman, 1976**).

- ✚ Les *E. Coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables de colites hémorragiques, de syndromes hémolytiques urémiques (SHU). Les *E. coli* 0157 H7 sont le plus souvent responsables de ces colites hémorragiques. Ces *E. coli* peuvent produire deux puissantes cytotoxines (toxines VT) (**Leclerc, 1993**). La dose infectieuse n'est pas connue avec certitude mais elle est faible (< 10/g).

### **II.2.2. *Shigella***

- **Définition**

Les *shigella* sont des entérobactéries immobiles extrêmement proches de *Escherichia coli* mais qui ne fermentent pas le lactose. Elles n'ont pas d'uréase et ne produisent pas de gaz. Elles sont parasites de l'homme et entraînent une colite infectieuse endémo-épidémique, la dysenterie bacillaire (shigellose) (**Lampel et Maurelli, 2003; Levine et al., 2007**).

- **Le pouvoir pathogène**

#### **a-Physiopathologie**

Après pénétration par voie orale (la dose infectante serait de l'ordre de  $10^2$  bactéries) les *Shigella* envahissent la muqueuse de la partie terminale de l'iléon et du gros intestin. Elles y forment des micro-abcès qui donnent naissance à des ulcérations superficielles qui saignent et se recouvrent d'une pseudo-membrane faite de mucus, de débris cellulaires, de leucocytes et de *Shigella*. La virulence est liée à la présence de grands plasmides (120 à 140 M Da) codant pour des protéines nécessaires à la phagocytose par les cellules M des plaques de Peyer et à la multiplication intracellulaire, et au passage de cellule à cellule. Certaines souches de *Shigella* produisent aussi une toxine à activité entérotoxique et neurotoxique, responsable du syndrome hémolytique urémique (SHU) (**Bagamboula et al., 2002**).

- **Clinique**

Les sujets atteints de shigellose se plaignent de douleurs intestinales paroxystiques (coliques), de diarrhée et de fièvre. Les selles sont liquides et contiennent du mucus, du pus. (**Niyogi 2005; Nygren et al., 2012**)

### II.2.3. *Salmonella*

- **Définition et habitat**

Les *Salmonella* sont des entérobactéries dont les caractères essentiels sont de ne pas fermenter le lactose et de ne pas produire d'uréase (**Leyral et Vierling, 2001**). Les *Salmonella* sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles). Elles sont responsables, après pénétration par voie orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes (maladies à déclaration obligatoire n° 1), des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives (maladies à déclaration obligatoire n° 12). Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*S.typhi* surtout), des aliments (ex. produits laitiers, œufs, viande) ou d'animaux familiers porteurs (tortues) (**Paul, 2005**).

- **Classification**

Les travaux récents de taxonomie, en particulier par hybridation de l'ADN, ont permis de conclure que le genre *Salmonella* ne comportait qu'une seule espèce, *Salmonella enterica*. Cette espèce comprend 7 sous-espèces différenciées par leurs biotypes. Les sous-espèces sont subdivisées en près de 2000 sérovars sur la base de leurs antigènes O, H et de capsule. Les sérovars étaient auparavant considérés comme des espèces distinctes (**Grimont & Grimond, 1986**).

- **Pouvoir pathogène naturel**

#### A- Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes

##### **Etiologie**

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire *S.Typhi*, *S.Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* et *S. Paratyphi C*. Ces *salmonella* sont dites majeures en raison de la gravité de la pathologie qu'elles provoquent (**Le Minor, 1989**).

##### **Physiopathologie**

Les Salmonelles sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé. La dose infectante serait de l'ordre de  $10^5$  bactéries (**Frenot et Vierling, 2001**). Elles traversent sans léser la paroi intestinale et gagnent les ganglions mésentériques satellites où elles vont se

multiplier. Une partie des *Salmonella* se lysent et libèrent leur endotoxine. Celle-ci provoque des signes cliniques (fièvre, tymphos, bradycardie) et biologiques (leucopénie) et une irritation des plaques de PEYER qui peut entraîner des hémorragies intestinales et des perforations. A partir des ganglions mésentériques, par le canal thoracique, des *Salmonella* gagnent le courant sanguin (hémoculture positive), et disséminent dans tous les organes (reins, foie, vésicule biliaire) et sont excrétées en faible nombre et de manière intermittente dans les selles (coproculture positive). Finalement, l'organisme infecté produit des anticorps contre les antigènes bactériens (sérodiagnostic positif), qui contribuent à la guérison spontanée de la maladie. Sans traitement, la mortalité est d'environ 20 %.

### ✚ Gastro-entérites à *Salmonella*

Les *Salmonella* dites « mineures » (*Salmonella typhimurium, enteritidis, dublin* etc...), ubiquitaires, sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé (cas sporadiques) ou après contamination féco-orale, souvent par les mains sales (épidémies de collectivités d'enfants). Il peut s'ensuivre des infections purement digestives, les gastro-entérites. Celles-ci se traduisent par de la diarrhée, des vomissements et de la fièvre. Leur évolution est en général bénigne. Certains sujets restent porteurs sains de *Salmonella* dans leur tube digestif et peuvent dans certaines circonstances (profession de l'alimentation) disséminer leur souche. Le diagnostic biologique des gastro-entérites repose sur l'isolement de la *Salmonella* par coproculture. (Le Minor, 1989)

## II.2.4. Les entérobactéries opportunistes

### II.2.4.1. *Klebsiella*

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés. On distingue cependant plusieurs espèces mais *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine.

#### *Klebsiella pneumoniae*

- **Définition**

Connue autrefois sous le nom de pneumobacille de Friedlander, *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie commensale de l'intestin, des voies respiratoires et des animaux (**Drancourt,**

2007). Chez l'homme, elle est l'agent responsable des pneumopathies aiguës, d'angines, d'otites, de cystites et d'affections rénales.

Ce sont des bactéries Gram négatif immobiles capsulées, surtout au sortir de l'organisme, très polymorphes. Sur gélose les colonies de type mucoïde ont un aspect caractéristique ; elles sont volumineuses, bombées, brillantes, opaques et souvent confluentes. En bouillon, on note la formation d'un trouble dense avec colorette visqueuse.

L'espèce *Klebsiella pneumoniae* est subdivisée en 3 sous espèces *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* et *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*. C'est une espèce ubiquitaire, et fréquemment isolée de l'environnement (eaux usées, sol,...etc.) et de la flore commensale du tube digestif et des voies respiratoires supérieures (Avril *et al.*, 2000 ; Bagley *et al.*, 1978).

- **Pouvoir pathogène**

*Klebsiella pneumoniae* est un germe opportuniste, responsable d'infections diverses infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère, principalement chez les malades immunodéprimés, cancéreux, brûlés, cirrhotiques, diabétiques, chez les vieillards, nourrissons, nouveau nés et prématurés (Sahly *et al.*, 2004 ; Stone *et al.*, 2003). Il est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales (Chung *et al.*, 1992 ; Podschun et Ullmann, 1998).

#### II.2.4.2. *Enterobacter*

- **Définition**

Les *Enterobacter* sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles, fermentent ou non le lactose et ils ont une  $\beta$ -galactosidase (Fauchère et Avril, 2002).

- **Pouvoir pathogène**

Différentes espèces constituent ce genre. Certains n'ont jamais été associés à des infections humaines. Les espèces les plus souvent isolés incluent *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, suivie par *Enterobacter sakazakii*. Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intra-abdominales et

ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites (**Fraser et al., 2010**). *Enterobacter sakazakii* est l'agent d'infections rares mais sévères touchant particulièrement les très jeunes enfants, les personnes âgées et les sujets immunodéprimés. Cette espèce se différencie des autres *Enterobacter* par son pigment jaune (**Leclercq, 2006**).

#### **II.2.4.3. Serratia**

##### **• Définition**

Toutes les *Serratia* possèdent une gélatinase et une DNase sauf (*S. fonticola*) (**Denis et Ploy, 2007**). D'une manière générale, les espèces de ce genre sont isolées des plantes (légumes, champignons, mousses), du tube digestif des rongeurs (40% des petits mammifères sauvages sont porteurs de *Serratia spp.*), des insectes, de l'eau et du sol (**Euzéby, 2003**).

##### **• Pouvoir pathogène**

Le genre *Serratia* comprend maintenant dix espèces *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia proteomaculans*, *Serratia grimesii*, *Serratia plymuthica*, *Serratia rubidaea*, *Serratia odorifera*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, et *Serratia entomophila* (**Sekhsokh et al., 2007**). La principale espèce pathogène du genre est *Serratia marcescens* qui provoque habituellement des infections nosocomiales. Toutefois, des souches de *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea* et *S. odorifera* ont causé des maladies à travers des infections (**Basilio, J.A. 2009**).

#### **II.2.5. Groupe des Proteae**

La tribu des *Proteae* ou groupe *Proteus- Morganella- Providencia*, appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Ce groupe se caractérise par la désamination d'acides aminés en acides cétoniques qui, additionnés d'ions ferriques, donnent des réactions colorées grâce à des enzymes comme

- Tryptophane désaminase (TDA).
- Phénylalanine désaminase (ph.al. DA) qui catalysent la désamination du tryptophane en acide indolpyruvique (coloration rouge brun avec Fe) et de la L phénylalanine en acide phenylpyruvique (coloration vert foncé avec Fe).

Les *Proteus* et *Morganella* hydrolysent rapidement l'urée contrairement aux *Providencia* qui ne possèdent pas d'uréase (**Amhis, 2004**).

### II.2.5.1. *Proteus*

- **Définition**

Les *Proteus* spp sont des bacilles à Gram négatif, généralement très mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 µm à 80 µm de longueur. (Lamnaouer, 2002)

- **Habitat**

Les espèces du genre *Proteus* sont largement répandues dans la nature et elles sont isolées du sol, de l'eau, de l'intestin de l'homme et de nombreuses espèces animales. (Lamnaouer, 2002)

- **Pouvoir pathogène**

Actuellement, le genre *Proteus* rassemble cinq espèces (Lamnaouer, 2002) dont 3 espèces importantes pour l'homme, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* (Goubau et Pellegrims, 2000). Certaines espèces comme *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* ont une propriété très connue de s'étaler très rapidement sur boîte de gélose c'est le phénomène de swarming (Pelmont, 2005). *Proteus mirabilis* est l'espèce la plus fréquemment isolée de prélèvements cliniques. (Lamnaouer, 2002). Après *Escherichia coli*, elle est la bactérie la plus souvent isolée des urines et elle est à l'origine aussi d'infections nosocomiales (Mahrouki *et al.*, 2009).

### II.2.5.2. *Morganella*

- **Définition**

Le genre *Morganella* se compose actuellement d'une seule espèce avec deux sous espèces, *morganii* et *sibonii* (O'Hara *et al.*, 2000). *Morganella morganii* est un organisme facultatif, anaérobique et ne fermente pas le lactose (Sinan Bilgin *et al.*, 2003).

- **Habitat**

Il se trouve normalement dans le sol, l'eau, les eaux usées, et il fait également partie de flore fécale de l'homme (Chou *et al.*, 2009).

- **Pouvoir pathogène**

Ce bacille est reconnu comme étant un pathogène commun responsable d'infections opportunistes dans les voies respiratoires, urinaires et aussi les infections des plaies (**Kim et al., 2007**).

### **I1.2.5.3. *Providencia***

- **Définition**

Les espèces du genre *Providencia* sont habituellement considérées comme commensaux dans le tube digestif (**Tribe et Rood, 2002; O'Hara et al., 2000**).

- **Pouvoir pathogène**

Chez le genre *Providencia* Certaines espèces (*Providencia stuartii* et *Providencia alcalifaciens*) ont été associées à des infections nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes (**Tribe et Rood, 2002; O'Hara et al., 2000**). Tous les isolats rapportés d'espèces de *Providencia* ont été isolés à partir de cas cliniques chez les humains et les animaux et on en sait peu sur la source de ces infections. Chez l'homme, ces bactéries sont la cause des infections urinaires (**Chander et al., 2006**).

### **II.2.6. *Yersinia***

- **Définition**

*Entérobactéries* immobiles, cultivant lentement, produisant une uréase très active (base de l'identification) mais pas de tryptophane désaminase, à la différence des *Proteus* qui sont aussi uréase + (**Nauciel, 2000**).

#### **I.5.5.1 *Yersinia enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis***

- **Habitat**

*Yersinia enterocolitica* et *Y.pseudotuberculosis*, trouvées chez l'animal (maladie des rongeurs) et dans l'environnement (sol, eaux), sont surtout les agents d'infections animales et rarement d'infections humaines (**Branger et al., 2009**).

- **Pouvoir pathogène naturel**

### **Physiopathologie**

Le bacille pénètre par voie digestive et se multiplie dans les ganglions mésentériques. Chez le sujet fragilisé, l'évolution peut se faire vers la septicémie. Maladie La forme la plus habituelle est l'adénite mésentérique à *Y. pseudotuberculosis* du sujet jeune à symptomatologie pseudo-appendiculaire. A l'intervention, l'appendice est normal mais on trouve un ou plusieurs ganglions congestifs. L'entérocolite à *Y. enterocolitica* est plus particulière elle est à début brutal et associe diarrhée intense, vomissements, douleurs abdominales et fièvre (**Giraud et al., 2003**).

# **C**hapitre 3

---

*Les antibiotiques et mécanismes de  
résistance*

### III.1. Définition des antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement, capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (Gogny *et al.*, 2001). Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (Ogwara, 1981).

### III.2. Mode d'action des antibiotiques

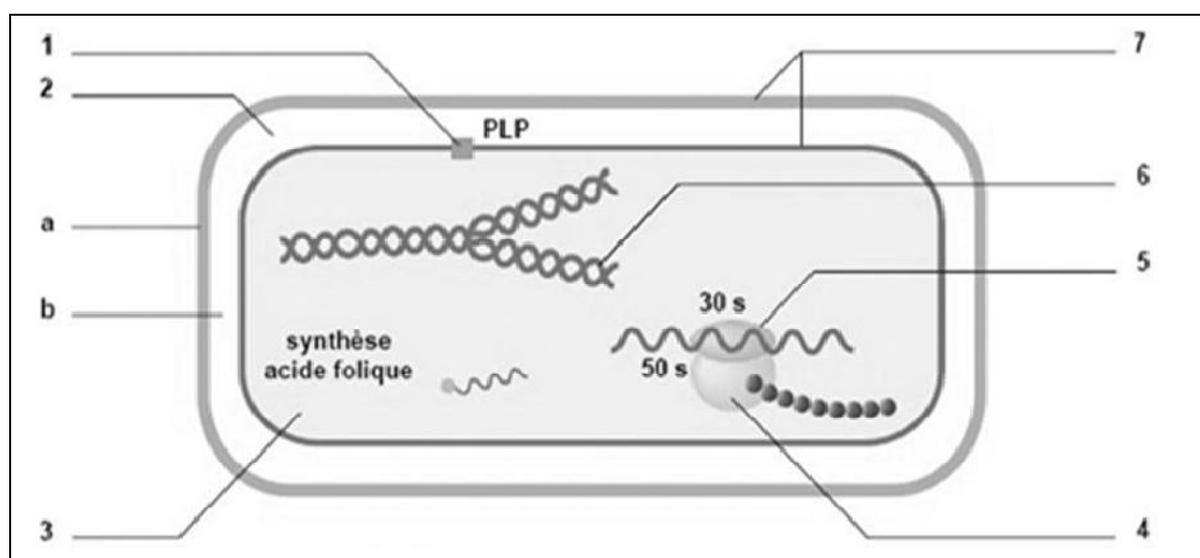
On considère les antibiotiques comme le groupe le plus important de médicaments pour la médecine. À côté de leurs propriétés de lutter contre les infections humaines dues aux bactéries pathogènes, ils sont également utilisés en médecine vétérinaire (Emmanuel, 2003). Les antibiotiques agissent à un niveau précis dans les structures bactériennes et chaque famille possède son site d'action propre (figure 03).

- **Action sur la paroi bactérienne :** Bacitracine, Pénicilline, Céphalosporines agissent sur les germes en croissance inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité, ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra cytoplasmique) (Zeba, 2005). Or, la pénicilline est un antibiotique empêche la synthèse de peptidoglycane ; par conséquent, la paroi cellulaire est grandement affaiblie, et la cellule finit par se lyser. Puisque la pénicilline agit seulement sur les cellules en croissance active (Gerard.I *et al.*, 2003).
- **Action sur la structure de la membrane :** en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échange électrolytique avec le milieu extérieur (Flandrois *et al.*, 1997).
- **Action sur la synthèse protéique :** sur les ribosomes, ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéine anormale. Les aminoglycosides ou aminosides (Streptomycine, gentamycine, amikacine), empêchent la traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes (Hermann, 2005). Les phénicolés (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien. Les cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur la petite sous-unité (Flandrois *et al.*, 1997) les macrolides et les kétolides (érythromycine, azithromycine) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique (Nilius et Ma, 2002). La puromycine copie

### Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance

l'extrémité d'un ARNt, prend sa place dans le ribosome et bloque l'élongation de la chaîne peptidique.

- **Action sur la synthèse de l'ADN :** certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. L'actinomycine bloque la progression de l'ARN polymérase. Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques (Flandrois *et al.*, 1997), les quinolones et les fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase (Chopra, 1998).
- **Autre :** en agissant tant qu'antimétabolites bactériens (c'est-à-dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries), par exemple ; agisse sur le métabolisme de l'acide folique (Gerard. *et al.*, 2003).



**Figure N°03 :** Cibles des principaux antibiotiques (Benlmouden et Hakkou, 2007).

a .Paroi bactérienne ; b. Espace périplasmique ; 1. β-lactamine (PLP) ; 2. Glycopeptides (D-ala); 3. Dihydroptérorate synthétase (sulfamides) ; 4. Fixation à la sous-unité 50 S du ribosome (macrolides, synergistines, lincosamides, phénicolés) ; 5. Fixation à la sous-unité 30 S du ribosome (aminosides, tétracyclines) ; 6. Acides nucléiques (quinolones, rifamycines, nitroimidazolés) ; 7. Membranes cytoplasmiques (polymyxines).

### III.4. La résistance aux antibiotiques

De nombreuses molécules des antibiotiques d'origine naturelle ou synthétique, ont été découvertes de la fin des années 1940 jusqu'aux années 1970. Le succès fulgurant des premiers traitements anti-infectieux a fait considérer un peu hâtivement le problème des maladies infectieuses comme définitivement réglé. Mais, rapidement, l'enthousiasme a décliné avec l'apparition des premières résistances des bactéries aux antibiotiques. Les bactéries ont su s'adapter et résister plus ou moins vite à chaque nouvel antibiotique introduit en thérapeutique (**Ploy et al., 2005**). Ces résistances peuvent avoir un spectre étroit, limité à un ou quelques antibiotiques de structure voisine, mais on observe depuis plusieurs années l'émergence de mécanismes de résistances croisées à des drogues de structures et de modes d'actions différents (**Walsh, 2000**). Aujourd'hui, apparaissent de véritables « monstres » bactériens résistants à tous les antibiotiques potentiellement actifs (**Ploy et al., 2000**).

#### III.4.1. L'origine génétique de la résistance et modalité de transfert génétique

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de la résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique). Soit dans des éléments mobiles, comme plasmides, élément transposables ou intégrons (résistance extra-chromosomique). La résistance peut être soit naturelle, soit acquise (**Mandell et al., 2009**).

##### III.4.1.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches alors que la résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée.

La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. Inversement, la résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques (**Fauchère et Avril, 2002**). Ses mécanismes biochimiques sont nombreux et quelques uns d'entre eux sont cités ci-dessous.

✚ Les bacilles à Gram négatif (et notamment les entérobactéries dont *K.p* et *Pseudomonas aeruginosa*) sont naturellement résistants, le plus souvent à bas niveau, aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, novobiocine, vancomycine) puisque ces antibiotiques ne

## Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance

peuvent traverser la membrane externe de la paroi. *Klebsiella pneumoniae* est naturellement résistante à l'amoxicilline, ampicilline et à la ticarcilline, grâce à une  $\beta$ -lactamase chromosomique naturelle (**Pina et al., 2000**).

✚ Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies. Pour les mêmes raisons, les bactéries aéroanaérobies facultatives sont moins sensibles aux aminosides lorsqu'elles sont placées dans un environnement pauvre en oxygène (**Paul, S .2005**).

✚ Certaines espèces (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus cereus*, *Nocardia* spp., ...) produisent naturellement des  $\beta$ -lactamases (**Paul, .2005**).

### III.4.1.2. Résistance acquise

Elle existe grâce à l'acquisition d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance qui déterminent un phénotype bien précis de résistance, différent du phénotype sauvage, caractérisant les souches n'ayant pas acquis ce mécanisme. Elle ne concerne qu'une population plus ou moins importante de souches d'une espèce.

Dès le début de l'antibiothérapie la résistance acquise a été observée mais sa fréquence était faible. Ultérieurement, la généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes et on constate, quotidiennement, que de très nombreuses souches ne se comportent pas à l'égard des antibiotiques conformément à ce que les spectres d'activité permettraient de le supposer. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis à-vis des antibiotiques (**Ros, 1999; Meyer et al., 2004**).

#### III.4.1.2.1. Mutation chromosomique (évolution verticale)

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20% des bactéries. Elle produit environ une fois pour chaque milliard de divisions cellulaires (**Pallasch, 2003**).

### III.4.1.2.2. Acquisition de gène de résistance (évolution horizontal)

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolé en clinique s'observe aussi bien chez les bactéries Gram positif qu'à Gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'élément mobile. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situe à l'extérieur et sur certain éléments mobiles du chromosome, tels les transposons. Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes. Le risque d'une résistance à plusieurs antibiotiques augmente aussi avec le transfert d'un seul plasmide. Par exemple, *Enterococcus faecalis* peut transférer un plasmide responsable de résistance à quatre ou cinq antibiotiques différents.

Les gènes ou les groupes de gènes de résistance peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou conjugaison (**Carattoli, 2001**)

- **La transformation**

La transformation est un processus actif qui permet le transfert et l'échange de gène, ce phénomène naturel est contrôlé par des gènes chromosomiques qui permettent l'absorption de l'ADN exogène libre par une cellule compétente (**Bacon et al., 2003**). C'est un mécanisme d'échange de gène très répandu, mais pas universel entre les souches bactériennes (**Wolfgang et al., 1999**).

Beaucoup de bactéries transformables libèrent leur ADN pendant la croissance. Ainsi, au moins 50 bactéries différentes ont été démontrées comme étant compétentes pour acquérir des gènes libérés dans l'environnement par d'autre organisme, même d'origine eucaryote (plante, levures et animaux) (**Havarstein et al., 1998**). Les gènes acquis après transformation doivent être intégré dans un plasmide ou un chromosome pour être fonctionnel (**Levy et al., 1998**) après une recombinaison homologue entre les séquences exogène et endogène (**Michael, John .M .2007**).

- **La transduction**

Dans le phénomène de la transduction, l'ADN est transféré d'une cellule à une autre par un bactériophage. Ce mécanisme se produit généralement lorsqu'un virus porte accidentellement de l'ADN d'une cellule bactérienne et l'injecte dans une autre essentiellement à la même espèce (**Davison et al., 1999**). Le transfert de gènes de l'hôte par

### *Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance*

les phages peut se faire de deux façons. Dans le premier cas, appelé transduction généralisée, et dans le deuxième cas transduction spécialisée (Michael, John .M .2007) .

#### Transduction généralisée

Elle résulte d'une erreur rare lors de l'assemblage d'un phage, lorsqu'un segment de génome de l'hôte est emporté avec l'ADN du phage. Cet ADN sera injecté à l'intérieur de la bactérie réceptrice et pourra apporter des gènes de résistances aux antibiotiques transmis verticalement à la descendance. S'il n'est pas intégré au chromosome de la réceptrice il sera perdu par dilution au cours des divisions bactériennes (Michael, John .M .2007).

#### Transduction spécialisée

C'est une caractéristique de certains phages lysogènes qui sont restés intégrés dans le chromosome de l'hôte un certain temps. A l'activation, l'excision du génome viral emporte des gènes adjacents de leur site d'intégration, l'infection d'une autre bactérie par ces virions apportera à celle-ci des nouveaux gènes qui pourront être des gènes de résistances aux antibiotiques (Michael et John. 2007).

#### • *La conjugaison*

La conjugaison est un processus au cours duquel l'ADN est transféré d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. La conjugaison est un mécanisme qui implique un plasmide, et le plasmide conjugatif utilise ce mécanisme pour transférer une copie de lui-même à un nouvel hôte. Donc, la conjugaison est un procédé de transfert génétique qui nécessite un contact direct entre deux cellules (Michael et John .2007), et responsable en grande partie de l'émergence d'une résistance chez les bactéries pathogènes. En pareil cas, la résistance se transmet aux bactéries filles. Les bactéries ayant reçu cet élément mobile peuvent se rétablir et redevenir sensibles aux antibiotiques si elles ne sont pas exposées à ces derniers (Yamashita *et al.*, 2000).

Les trois mécanismes de transfert génétique sont illustrés dans la **figure 04** :

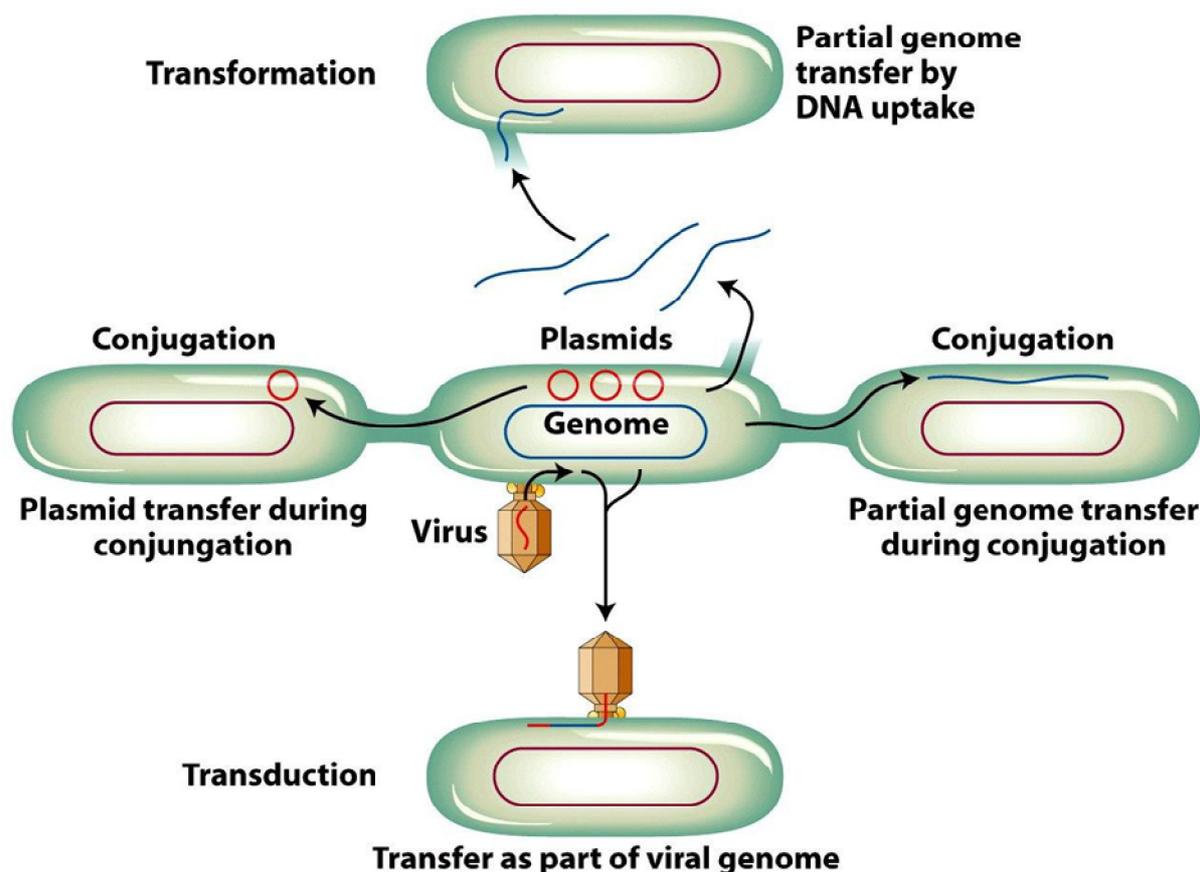


Figure N° 04 : Les trois mécanismes de transfert génétique

### III.4.1.3. Résistance croisée et Co-résistance

La résistance croisée résulte d'un seul mécanisme biochimique et concerne des antibiotiques appartenant à la même famille. La Co-résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistance impliqués) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles.

### III.5. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée de cet antibiotique (Lavigne, 2007). Alors ces micro-organismes ont développé trois types de mécanismes de résistance (tableau 5)

- Le premier est la production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques (ex :  $\beta$ -lactamases).
- Le deuxième est la modification des cibles des antibiotiques empêchant l'action de ces derniers, comme par exemple la résistance aux fluoroquinolones par modification des topoisomérases de classe II.

### Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance

• Enfin, le troisième mécanisme est la réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotique. Ce phénomène peut être dû à un transport actif vers l'extérieur de la cellule via des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux et/ou à une imperméabilité (**Cattoir, 2004**) (ex. résistance à l'imipénème causée par la surproduction de AmpC pouvant être associée à des pertes de porines de la membrane externe et/ou la surexpression des pompes à efflux) (**Paul, 2005**).

**Tableau N° 05 : Les mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques (Li et Nikaido, 2004).**

Antibiotique	Cible Bactérienne	Mécanisme de résistance			
		Inactivation Enzymatique	Modification de cible	Imperméabilité Cellulaire	Efflux actif
<b>Inhibition de la synthèse de la paroi (peptidoglycane)</b>					
<b>β-lactamines</b>	PLP	+++	++	++	++
<b>Glycopeptides</b>	Précurseurs D-Ala-D-Ala		+++		
<b>Inhibition de la synthèse protéique</b>					
<b>Aminosides</b>	ARN ribosomal 30S	+++	++	+	+
<b>MLS</b>	ARN ribosomal 50S	+	+++		++
<b>Tétracyclines</b>	ARN ribosomal 30 <sub>s</sub>		++		+++
<b>Phénicolés</b>	ARN ribosomal 50 <sub>s</sub>	++			++
<b>Oxazolidinones</b>	ARN ribosomal 50 <sub>s</sub>		++		
<b>Inhibition de la synthèse ou de fonctionnement de l'ADN</b>					
<b>Fluroquinolones</b>	Topoisomérases		+++		++
<b>Rifamycines</b>	ARN Polymérase		+++		+
<b>Sulfamides</b>	DHFS		++		+
<b>Triméthoprimes</b>	DHFR		++		+

### **III.6. La sensibilité aux antibiotiques**

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines G et M, Macrolides, lincosamides, synergistines et glycopeptides. Elles sont habituellement sensibles aux  $\beta$ -Lactamines, Phénicoles, Tétracyclines, Sulfamides, Triméthoprime, Nitrofuranes, Fosfomysine, Colistine et Aminoside (Kanamycine, Gentamicine, Tobramycine, Amikacine et Nétilmicine) (**Bonnet, 2006**).

### **III.7. Les $\beta$ -lactamines**

#### **III.7.1- Généralités**

- Les  $\beta$ -lactamines ont un effet bactéricide sur les bactéries en voie de croissance, et considéré comme la famille la plus fréquemment utilisée dans le monde car :
- les  $\beta$ -lactamines ont un large spectre antibactérien
- il existe de nombreuses variétés de  $\beta$ -lactamines, ayant toutes en commun le cycle  $\beta$ -lactame
- Cette famille caractérisé par leur faible toxicité et le vaste choix de molécules disponibles (**Ferech et Coenen. 2006 ; Livermore. 1995 ; Vander-Stichele et al., 2006**).
- le traitement d'environ 55 % de toutes les infections bactériennes se fait par les antibiotiques formant la famille des  $\beta$ -lactamines
- Grâce à leur grande efficacité et au peu d'effets secondaires les antibiotiques de cette famille sont les plus utilisées (**Fisher et al., 2005 ; Matagne et al., 1999 ; Schroeder et al., 2002**).

#### **III.7.2- Structure**

Les  $\beta$ -lactamines ont en commun une structure appelée l'anneau  $\beta$ -lactame, qui est formée de quatre membres : trois atomes de carbone et un atome d'azote. Cet anneau constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules (**Fisher et al., 2005**).

La structure de base des pénicillines, l'acide 6-aminopénicillanique, est constituée d'un cycle thiazolidine lié au cycle  $\beta$ -lactame. Par contre, les céphalosporines se distinguent chimiquement des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine (noyau « céphème ») avec un atome de soufre en position 1 (**Dbaiho. 2000**).

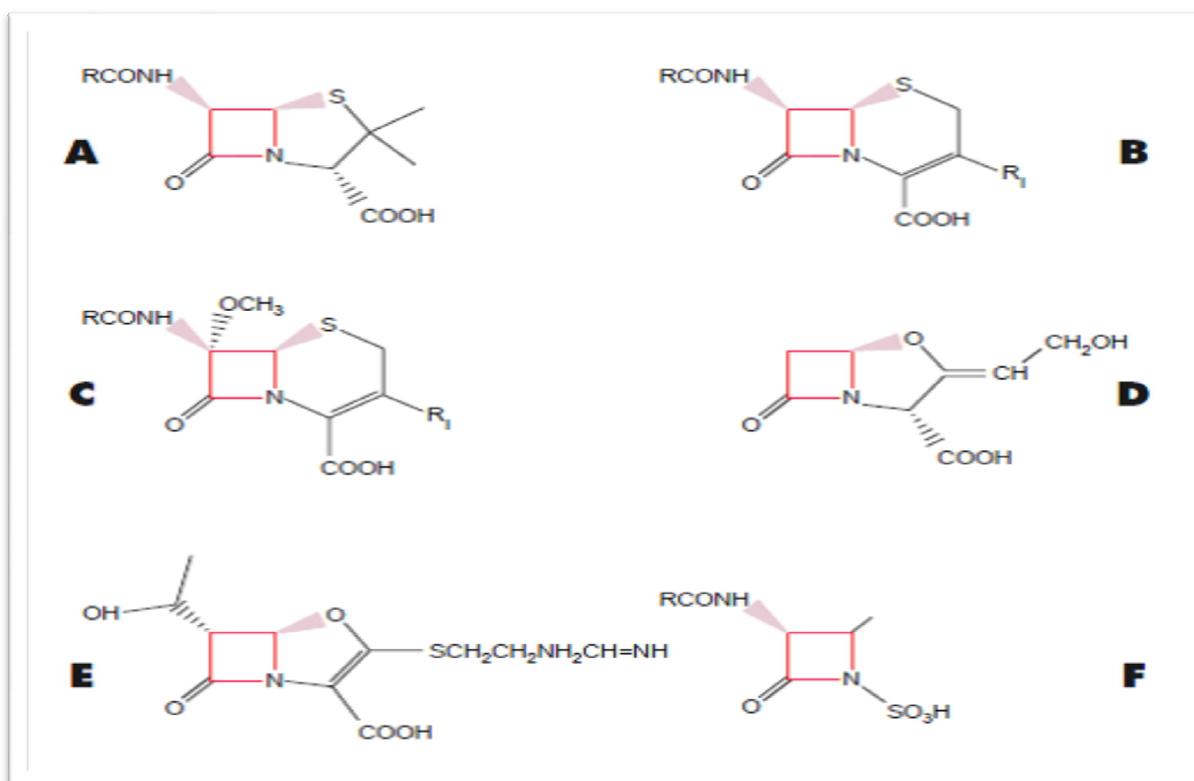
## Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance

Leur noyau céphème est beaucoup plus stable que le noyau pénème des pénicillines, ce qui permet aux céphalosporines de mieux résister globalement à l'action diverse des  $\beta$ -lactamases bactériennes.

### III.7.3. classification

C'est une grande famille d'antibiotique dont le représentant le plus ancien est la pénicilline G. Toutes les  $\beta$ -lactamines ont une structure commune, le noyau  $\beta$ -lactame (noyau azétidinone), dont l'intégralité est indispensable à leur activité. La famille des  $\beta$ -lactamines est répartie en quatre principaux groupes :

- Les pénicillines,
- Les céphalosporines,
- Les monobactames
- Les carbapénèmes (Figure N°05) (Bryskier, 1999).



**Figure N°05 :** Structures de quelques  $\beta$ -lactamines (Charlier et al. 1998).

*A* : pénicillines ; *B* : céphalosporines ; *C* : céphamycines ; *D* : acide clavulanique ;  
*E* : imipénème (carbapénème) ; *F* : monobactames.

## Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance

### III.7.3.1. Les pénicillines (noyau péname)

dont font partie la pénicilline G, la méticilline et les isoxazolylpénicillines (oxacilline et cloxacilline), les amino-benzylpénicillines (ampicilline et amoxicilline), les uréido-pénicillines (pipéracilline), les carboxy-pénicillines (ticarcilline) et les amidino-pénicillines (mécillinam) (Paul, 2005).

- **Mode d'action des pénicillines**

Les pénicillines sont produites soit par voie naturelle ou par voie semi-synthétique, elles empêchent les dernières étapes de la formation de la paroi cellulaire, car elles agissent en bloquant la réticulation des peptidoglycanes. Alors, La perte de la paroi cellulaire empêche la croissance de la bactérie et la cellule bactérienne meurt rapidement. Il n'est pas toujours judicieux d'utiliser ce type d'antibiotiques dans le cas des bactéries Gram négatif, puisque les endotoxines peuvent être ainsi libérées (Gerard. *et al.*, 2003).

### III.7.3.2. Les Carbapénèmes (noyau pénème)

qui sont les plus efficaces actuellement, exemples : imipénème, méropénème (Cavallo *et al.*, 2004). Ils sont très actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif. L'imipénème est résistant à la plus part des  $\beta$ -lactamases, y compris les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi. De très rares souches d'entérobactéries sont apparues capables de dégrader l'imipénème ont été décrites.

- **Mode d'action des Carbapénèmes**

Les carbapénèmes dont l'imipénème-cilastin, ayant un spectre d'action étonnamment étendu. Ces antibiotiques ont une activité inhibitrice sur la synthèse de la paroi cellulaire. (Gerard. *et al.*, 2003).

### III.7.3.3. Les céphalosporines (noyau céphème)

Les céphalosporines sont des antibiotiques appartenant à la grande famille des  $\beta$ -lactamines. La mise en évidence de cette famille a été initiée en 1945 par le professeur Brotzu en Sardaigne (Gootz. 1990). Il a mis en évidence l'activité antibactérienne du filtrat d'un champignon dénommé *Cephalosporium acremonium*, isolé à partir d'eau de mer prélevée à proximité d'une décharge publique. Ces  $\beta$ -lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif.

Actuellement, il existe quatre générations de céphalosporines classées selon leur date de mise sur le marché et leur spectre d'activité :

### Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance

- ✚ **Les Céphalosporines de 1ère génération** : Elles peuvent être actives sur des souches résistantes aux pénicillines à large spectre. Elles sont par contre détruites par les céphalosporinases de nombreux bacilles à Gram négatif. Les principaux produits sont les suivants : la céfalotine la céfradine...etc (**cavallo et al., 2004**).
- ✚ **Les Céphalosporines de 2ème génération** : comprend les céphamycines comme la céfoxitine et le céfotétan leur sont rattachées du fait de leur spectre très proche, à certaines entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre étendu (**cavallo et al., 2004**).
- ✚ **Les Céphalosporines de 3ème génération** : Elles comprennent entre autres le céfotaxime, le latamoxef, la céftriaxone, la céftazidime, le céfménoxime et le céftizoxime. Quelques molécules proches des céphalosporines de 3ème génération, présentent des avantages particuliers relatifs à leurs propriétés antibactériennes ou pharmacologiques : céfopérazone, céfatiam, céfotétan, cefsulodine, céfixime (**cavallo et al., 2004**).
- ✚ **Les Céphalosporines de 4ème génération** : Ce sont des 7-méthoxyimino céphalosporines zwitterioniques, caractérisées par la présence d'un ammonium quaternaire en position C3. Elles montrent peu d'affinité pour les  $\beta$ -lactamases de classe I et pénètrent très rapidement au travers de la membrane extérieure des bacilles à Gram-négatif. Elles comprennent au moins une demi-douzaine de produits incluant ceftiprome, céfépime, cefclidine, céfzoprane (**Gerard et al., 2003**) .

#### • Mode d'action des Céphalosporines

La structure du noyau des céphalosporines ressemble à celle du noyau de la pénicilline, et par le même mécanisme d'action que les pénicillines les céphalosporines inhibent la synthèse de la paroi cellulaire essentiellement. Mais, elles se distinguent des pénicillines par leur résistance aux pénicillinases et par leur efficacité contre un nombre plus grand de bactérie Gram négatif que les pénicillines naturelles. Les céphalosporines sont toutefois sensibles à l'action d'un groupe particulier de  $\beta$ -lactamases ( **Gerard et al., 2003**).

### III.7.3.4. Monobactames

Un produit est actuellement utilisé, l'aztréonam. Son spectre est limité aux bactéries à Gram négatif aérobies. Ces derniers sont en revanche, très actifs sur les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*. L'activité antibactérienne à Gram négatif de l'Aztréonam, chef de file de cette classe, est globalement comparable à celle de céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération comme la Céftriaxone. L'Aztréonam présente une bonne stabilité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines de spectre restreint. De plus, les monobactames constituent les seules  $\beta$ -lactamines non hydrolysées par la métallo-  $\beta$ -lactamines (Courvalin *et al.*, 1991).

- **Mode d'action de monobactames**

Dans le but de vaincre les effets de la pénicillinase, l'aztréonam a été créé et il est le premier agent d'une nouvelle classe d'antibiotiques. Cet antibiotique synthétique, muni d'un seul cycle plutôt que des deux cycles habituels des  $\beta$ -lactames, est alors un monobactame. Le spectre d'action de l'aztréonam est remarquable, pour un composé apparenté aux pénicillines ; cet antibiotique a un effet seulement sur certaines bactéries à Gram négatif, y compris *Pseudomonas* et *E.coli*. Les monobactames ont un caractère peu commun, c'est la faible toxicité, constitue un autre avantage de cette molécule (Courvalin *et al.*, 1991).

### III.7.4.Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines inhibent les transpeptidases et les carboxypeptidases parce qu'elles possèdent une analogie structurale avec le substrat naturel de ces enzymes et se fixent par une liaison covalente sur des cibles spécifiques, les PLP (protéine de liaison à la pénicilline) ce qui inhibe la transpeptidation et la synthèse du peptidoglycane (Stratton, 2000). Une fois fixé sur les PLP, les  $\beta$ -lactamines provoquent une déstructuration du peptidoglycane et la libération de l'acide - lipoteichoïque qui mettent en jeu le système autolytique bactérien (Ghuysen, 1991 ; Nanninga, 1991).

#### III.7.4.1 Synthèse de peptidoglycane

La formation du peptidoglycane est un phénomène complexe en raison du nombre important d'étape mise en jeu et de leur compartimentation dans des sites cellulaires distincts: cytoplasme, membrane cytoplasmique et périplasme (Matagne *et al.*, 1998). Les étapes cytoplasmiques conduisent à la formation de l'UDP-N-acétylmuramyl-pentapeptide à partir de l'UDP-N-acétylglucosamine. Le motif phospho-N-acétylmuramyl-pentapeptide est ensuite

## Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance

transférer à -un décaprényl phosphate, puis il y a introduction d'un résidu de N-acétylglucosamine. Le précurseur membranaire ainsi formé sert de substrat pour les étapes de polymérisations, qui - on lieu à l'extérieur de la membrane cytoplasmique et qui comprennent des réactions de transglycosylations conduisent aux pontages entre sous-unités peptidiques (Courvalin *et al.*, 1991 ;Wilke *et al.*, 2005).

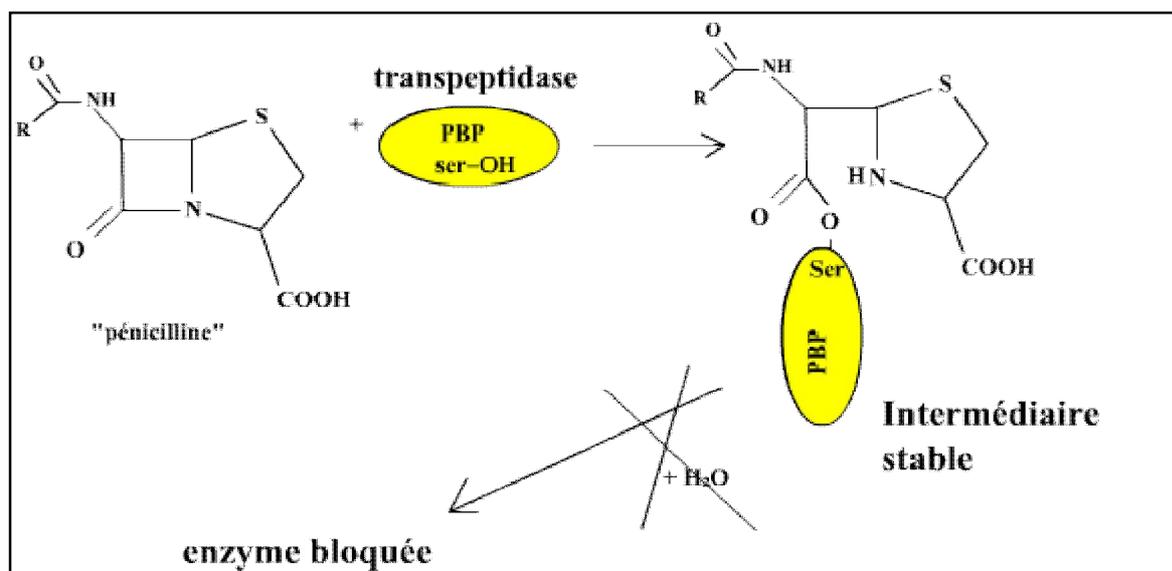


Figure N° 06 : Mécanisme d'action des  $\beta$ -lactamines  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2806661/>.

### III.8. Les aminosides

#### III.8.1. Définition

Les antibiotiques aminosidiques ou aminoglycosides sont des molécules de petite taille, présente un large spectre, bactéricide, constituées de plusieurs cycles substitués par des fonctions amines et hydrolyse notamment et dont certains sont des cycles sucres. Ces composés sont largement employés en thérapeutique dans le traitement des infections bactériennes sévères, principalement en milieu hospitalier (Courvalin *et al.*, 1991).

#### III.8.2. Classification des aminosides

Les aminosides sont classés selon la position des sucres fixés sur le cycle désoxystreptamine.

- Substitution en 4-5: néomycine, paromomycine, lividomycine, ribostamycine et butyrosine.

## *Chapitre III----- Les antibiotiques et mécanismes de résistance*

- Substitution en 4-6: ici situent tous les aminosides essentiels, parmi lesquels on peut rapprocher, en fonction des analogies de formules, kanamycine, tobramycine, dibécacine et amikacine, gentamicine, sisomicine et nétilmicine.
- Autres aminosides : spectinomycine, apramycine, fortimicines, kasugamycine ces trois derniers ne sont pas utilisés en thérapeutique humaine (**Le Minor et Véron., 1989**).

### **III.8.3. Mode d'action des aminosides**

Le transport des aminosides à l'intérieur des bactéries est un processus requérant de l'énergie et que l'on peut décomposer en trois étapes successives.

- Première étape : Très rapide non spécifique et réversible, aboutit à la fixation des aminosides, molécules fortement cationique, sur des structures anioniques externe de la membrane cytoplasmique et ce via les interstices du peptidoglycane chez les Gram positif, par des pores ou par dislocation du lipopolysaccharide chez les Gram négatif (**Changeur et Cherruault., 2009**).
- Deuxième étape: requiert une énergie métabolique délivrée par un gradient entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule et cette étape peut être bloquée par mutation. Elle peut également être perturbée, si les conditions strictes exigées par la production d'énergie oxydatif pour le transport des aminosides ne sont pas respectées (**Bryskier, 1999**).

### **III.9. Les quinolones**

#### **III.9.1. Définition**

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité (**Cattoir, 2012**). Parmi eux, les fluoroquinolones qui sont actifs notamment sur les bacilles à Gram négatif (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Elles sont largement prescrites dans les infections urinaires, respiratoires, génitales, osseuses, méningées, abdominales... etc., en particulier au cours d'infections à bacilles à Gram négatif aérobies (**Ansart et al., 2005**).

### **III.9.2. Classification des quinolones**

- Les premières quinolones, dites de première génération: acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, comprennent des molécules à spectre étroit, utilisées dans le traitement des infections urinaires dues aux entérobactéries.
- Les quinolones de deuxième génération: norfloxacine, ofloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine, présentent un spectre élargi à d'autres bacilles à Gram négatif.
- Les molécules de troisième génération ou dites fluoroquinolones: sparfloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine.
- les fluoroquinolones de quatrième génération: trovafloxacine, gatifloxacine présentant une activité accrue sur les bactéries anaérobies strictes (**Cattoir, 2012**).

### **III.9.3. Mode d'action des quinolones**

Le mécanisme d'action de cette classe pharmacologique consiste en une inhibition de l'ADN gyrase, topoisomérase II bactérienne composée de deux sous-unités A et deux sous-unités B et de la topoisomérase IV. Ces enzymes sont essentielles à la réplication et à la transcription de l'ADN bactérien, l'inhibition par les quinolones du complexe ADN bactérien enzymes empêche le «surenroulement» de l'ADN, le relâchement de l'ADN «surenroulé» et entraîne la séparation de la double chaîne hélicoïdale de l'ADN. Les quinolones sont spécifiques à l'ADN bactérien et exercent une activité bactéricide pendant la phase de multiplication et de repos des bactéries (**Larouche, 2001**).

# **P**artie 2

---

*Etude Expérimentale*

# **M**atériels

---

*Et Méthodes*

## **1. Objectif de l'étude :**

Notre travail a été effectué durant la période Février - Avril de l'année 2016 au niveau de laboratoire de microbiologie, dans lequel nous avons réalisé un ensemble d'analyses microbiologiques sur les différentes souches des entérobactéries isolées à partir de fromage traditionnel (Jben) fabriqué au niveau des laiteries traditionnelles de la ville de Tébessa. Pour but d'étudier la sensibilité de ces souches aux antibiotiques.

## **2. Lieu de l'étude :**

Cette étude a été réalisée, au niveau de laboratoire de microbiologie appliquée, Département de Biologie, Université Larbi Tébessi -Tébessa-

### **3.1. Matériels biologiques**

L'échantillon étudié : fromage frais (Jben traditionnel)

### **3.2. Matériels non biologique :**

Pour effectuer les différentes étapes de notre travail expérimentales, on utilise le matériel suivant :

- **Appareillage**

Agitateur électrique (Hoptplate Stirrer), autoclave, bain marie (Memmert), balance analytique (KERN), Bec benzène, étuves (Memmert, LabTECh), four Pasteur (Heraus), Micropipettes (DIGIPETTE, ISOLAB), microscope optique, mortier, Plaque chauffante, réfrigérateur (LG).

- **Verreries et petit matériel**

Anse de platine, système d'identification API20E, béchers, boîtes pétri, éprouvettes, flacons en verre de 250 ml, lames, pied à coulisse, pince, pipettes graduées, Pipettes Pasteur, portoir des tubes, Spatule, tubes à essai, micropipette, poire

- **Réactifs et produits chimique**

Les produits chimiques et les réactifs utilisés au cours de cette étude sont les suivants :

Poudre de zinc, Réactifs pour coloration du GRAM (Violet de Gentiane, fuchsine, Lugol),

Nitrate réductase I et II, Réactif de Kovacs, reactif TDA, Réactif de Vogues Proskauer (VPI et VPII) et Huile de Vaseline

- **Disques d'antibiotiques**

Pour étudier le comportement des entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques, 14 disques (Institut Pasteur d'Alger) ont été utilisés pour réaliser un antibiogramme sur milieu solide (MH), il s'agit , Triméthoprim (SXT 25µg), Gentamycine (GM 10 µg), Cetazidine (CAZ 10 µg), Chloramphénicol (C<sub>30</sub> 20 µg),Ticarciline (TC 16 µg),Ampicilline (AMP 10 µg) , Amikacine (AK 16 µg) , Oflosacine (OFX 5 µg),Tetracycline (TE 30 µg),et Imipénème (IMI 10 µg ), Céfoxitine (FOX 30 µg),Cefotaxime (CTX 30 µg), Acide nalidixique (NA 30 µg),Nitrofuranes (F 30 µg).

- **Milieus de culture**

Les milieux utilisés sont nombreux, leurs compositions sont données en annexe II.

✚ **Les géloses** : Mueller Hinton, Gélose nutritive, Mac ConKey, VRBG.

✚ **Les bouillons** : Bouillon nutritif

#### 4. Echantillonnage :

##### 4.1. Provenances des échantillons :

Quatre échantillons de préparations laitières traditionnelles ont été prélevés dans la région Tébessa durant la période de février-mai 2016. Ces échantillons ont été récupérés dans des sachets de prélèvement stériles, environ 200 g par sachet, et transportés au laboratoire pour être analysés.

**Tableau N°06:** Caractéristiques des échantillons prélevés.

Numéro d'échantillon	Application traditionnelle	Date de prélèvement	Matière de production	Observation	Origine d'échantillon
E <sub>1</sub>	Jben (Fromage frais artisanal)	14 février 2016	Lait de vache	Matière molle, couleur blanchâtre.	Tébessa
E <sub>2</sub>		22 février 2016			
E <sub>3</sub>		01 mars 2016			
E <sub>4</sub>		07 mars 2016			

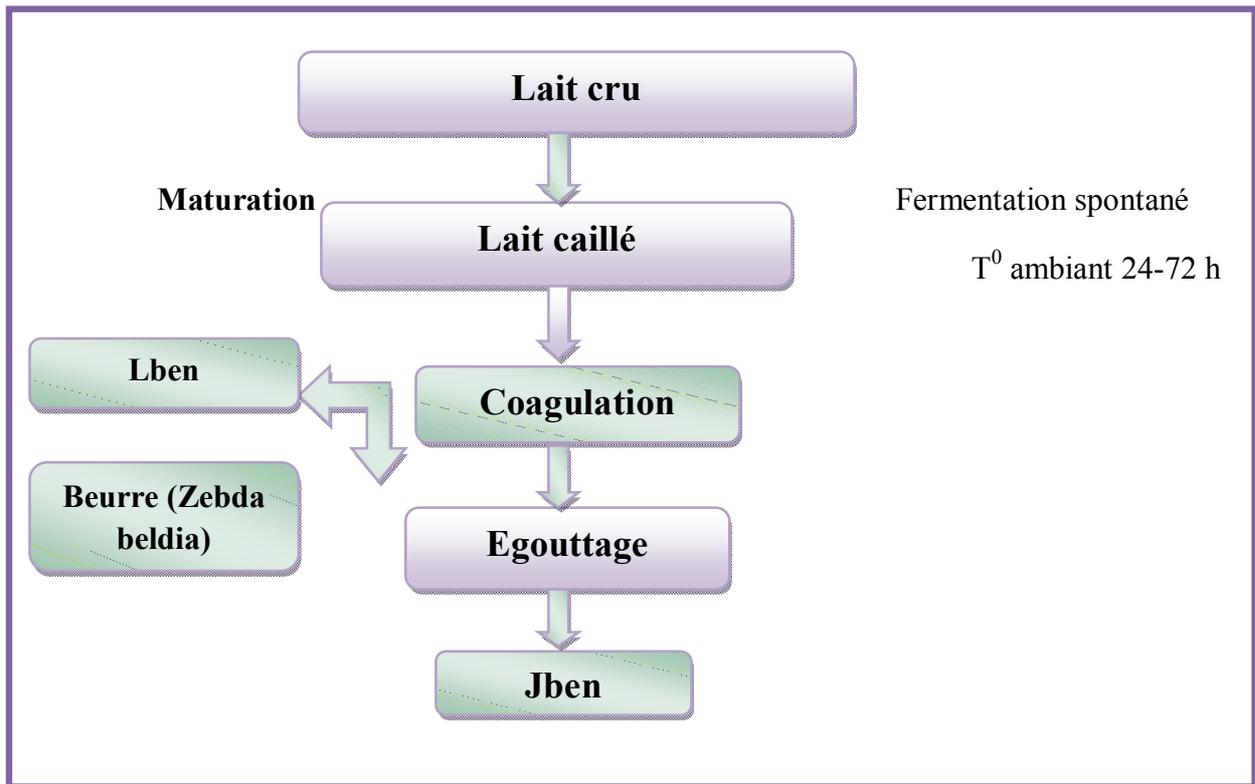


Figure N° 7: Méthode de fabrication des produits laitiers traditionnels.

### 5. Isolement des bactéries

Dix grammes de l'échantillon (Jben) a été homogénéisés avec 90 ml de tryptone sel (ou eau physiologique stérile). A partir de cette dilution  $10^{-1}$ , des dilutions décimales (de  $10^{-2}$  à  $10^{-5}$ ) ont été préparées et pour chaque dilution un volume de 0,1 ml a été étalé en surface sur les milieux d'isolement (Idoui *et al.*, 2009). L'isolement des entérobactéries est réalisé sur le milieu Mac Conkey et le milieu VRBG les deux milieux de PH  $7,4 \pm 0,2$ .

Les conditions de culture sont reportées dans le tableau n° :

**Tableau N°07** : Milieux sélectifs et conditions d'incubation pour recherche des germes de contamination

Germes recherchés	Milieu de culture utilisé	Type d'ensemencement	Conditions d'incubation	
			Température	Temps
Les entérobactéries	VRBG	Surface	37°C	24h à 48h
	Mac Conkey	Surface	37°C	24h à 48h

**5.1. Etude macroscopique :**

Dans chaque boîte on prend des colonies de forme caractéristique sur lesquelles sera effectuée une coloration de Gram, alors sur :

- Milieu VRBG : les colonies sont rond, bombée, lisse rouge d'au moins 0,5mm de diamètre.
- Milieu Mac Conkey : des colonies rouge (Lac +), ou bien des colonies incolore ou jaune de forme rond (régulier ou irrégulier) généralement de taille grand, crémeuse et laiteuse.

**5.2. Etude microscopique :**

Après l'examen macroscopique et à l'aide d'une anse de platine, On prélève de chaque boîte des colonies suspectées bien isolée sur lesquelles sera effectuée une coloration de Gram (technique voir l'annexe V) pour le bute de différencier les bactéries soit Gram positif ou négatif et d'apprécier leur morphologie.

Alors, dans notre étude les bactéries examinés se sont des bactéries Gram négatif, leur forme soit des bacilles de taille moyen ou de taille grande, diplocoque, coccobacille isolé ou en amas.

**6. Purification et conservation des isolats :**

Nous avons effectué une série d'ensemencement par la méthode des stries sur boîtes des cultures déjà coulé de milieu VRBG ou Mac Conkey (à raison de 5 boîtes pour chaque milieu) pour bute d'avoir des cultures pures. L'opération est renouvelée en prenant chaque fois au hasard une colonie isolée. Jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, même forme et même couleur renseignant sur la pureté des souches (**Idoui et al., 2009**), estimée par observation microscopique après coloration de Gram.

La conservation à court terme des isolats purifiés est réalisée par ensemencement sur gélose inclinée. Après 24h d'incubation les tubes sont placés à +4°C, où ils peuvent être conservés pour plusieurs semaines.

### **7. L'identification biochimique des isolats:**

#### **🚩 Préparation de l'inoculum bactérien :**

Donc, pour faire l'identification biochimique par la galerie API 20 E on doit travailler sur culture jeune :

- répartie 150 ml de bouillon nutritif dans 30 tubes stériles
- Ensemencer chaque 5 ml de bouillon nutritif avec 3 à 4 colonies de la souche à tester
- les milieux incubés à 37°C pendant 24h

Puis, Le milieu utilisé est la gélose nutritive. Il est préalablement coulé dans les boîtes, car l'ensemencement se fait en surface. Alors, on ensemence 0,1ml de chacun des suspensions bactériennes des isolats (30 isolat) que l'on met dans des boîtes de pétri. On utilise une anse de platine pour faire l'ensemencement par strie. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

#### **✓ API 20E (Bio-Mérieux, Meylan, France) :**

##### **• Principe**

La galerie API 20 E (Appareillage et Procédé D'Identification), c'est un système miniaturisé d'identification biochimique qui comporte 20 micro-tubes de substrats déshydratés, la suspension bactérienne répartie dans les micro-tubes dissout les substrats. Après incubation pendant (24h), les réactions sont mises en évidence par les virages colorés spontanés ou par l'ajout de réactif. La lecture de la galerie est faite à l'aide d'un codeur qui transforme automatiquement les 20 résultats des tests biochimiques en nombre de 7 chiffres appelé « profil numérique » (<http://site.iugaza.edu.ps/mlaqqan/files/2012/04/Api20E1.pdf>) L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

##### **• Technique**

Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne (on travaille sur 30 API20E) selon les étapes suivantes :

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- ✓ Sortir la galerie de son emballage.
- ✓ Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- ✓ A l'aide d'une pipette prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.

- ✓ Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.
- ✓ Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette pasteur (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule).
- ✓ Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.
- ✓ Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
- ✓ Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- ✓ Refermer la boîte d'incubation.
- ✓ Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures
- **Lecture de la galerie**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture (Annexe IV). Si 03 tests ou plus sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

-Test **TDA** : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

- Test **IND** : ajouter 1 goutte de réactif Kovacs. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

- Test **VP** : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 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.

## **8. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques**

### **L'antibiogramme**

#### **Principe**

Le test de sensibilité des souches vis-à-vis 14 antibiotiques a été déterminé par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) selon les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM 2014).(Annexe VI)

**Tableau N°08: Les antibiotiques utilisés dans notre étude**

Famille d'antibiotique		antibiotique	L'abréviation	La charge du disque
<b>β-lactamines</b>	Pénicilline	Ampicilline	<b>AMP</b>	<b>10µg</b>
		Ticarciline	<b>TIC</b>	<b>75 µg</b>
	Céphamycines	Céfoxitine	<b>FOX</b>	<b>30 µg</b>
		Cephalosporines	Cefotaxime	<b>CTX</b>
	Cetazidime		<b>CAZ</b>	<b>30 µg</b>
Carbapenemes	Imipénème	<b>IMP</b>	<b>10 µg</b>	
<b>Aminosides</b>		Gentamicine	<b>GM</b>	<b>10 µg</b>
		Amikacine	<b>AK</b>	<b>30 µg</b>
<b>Fluoroquinolones</b>		Ofloxacine	<b>OFX</b>	<b>5 µg</b>
<b>Quinolones</b>		Acide nalidixique	<b>NA</b>	<b>30 µg</b>
<b>Phenicoles</b>		Chloramphénicole	<b>C</b>	<b>30 µg</b>
		Nitrofurames	<b>F</b>	<b>300 µg</b>
<b>Tetracycline</b>		Tetracycline	<b>TE</b>	<b>30 µg</b>
<b>Sulfamides-trimethoprime</b>		Triméthoprime-Sulfanéthoxazol	<b>SXT</b>	<b>25 µg</b>

### **Technique**

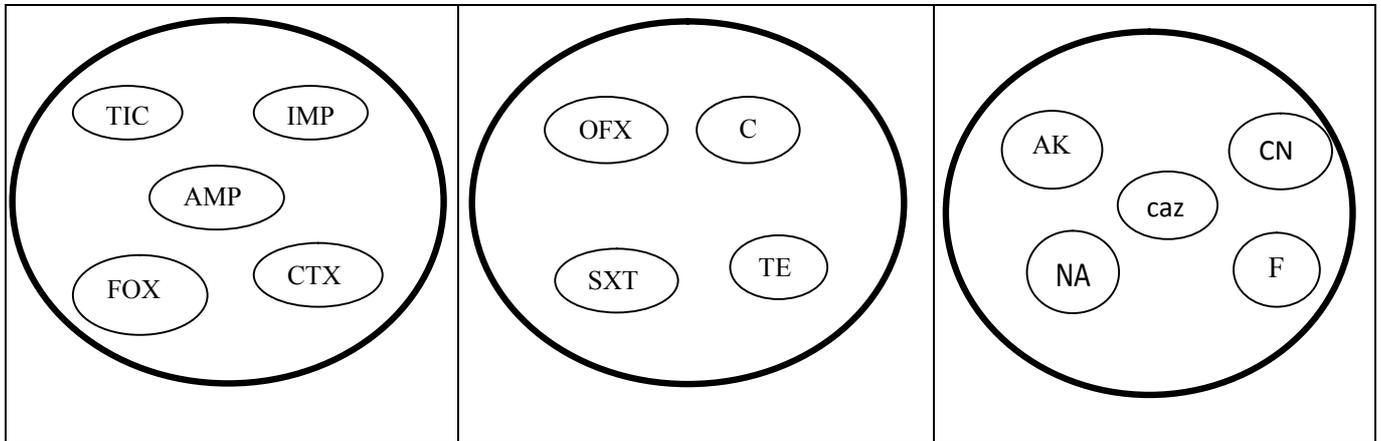
- **L'ensemencement**

Donc, on coule 30 boîtes de pétri par la gélose Mueller Hinton, puis on répartit 9ml dans 30 tubes d'eau physiologique, et à l'aide de l'anse de platine on prélève quelques gouttes à partir des tubes qui contiennent les suspensions bactériennes (l'inoculum déjà préparé), ensuite on introduit dans chaque tube, on mélange bien la suspension bactérienne. Les boîtes de gélose Mueller Hinton (30 boîtes déjà coulées) sont ensemencées par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne (30 tubes déjà préparés) de l'écouvillon correspondant à 0.5 Mac Farland.

- **Application des disques:**

Les disques d'antibiotiques y sont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la gélose selon la méthode illustrée dans la **figure N° 08**. On laisse les boîtes environ 20 mn à la température

ambiante pour permettre un pré -diffusion de l'antibiotique, puis on incube pendant 18-24 h à 37°C ±1°C (Leroy *et al.*, 2007).



**Figure N° 8 :** Disposition des antibiotiques sur les boîtes d'antibiogrammes

- **La lecture :**

À l'aide d'un pied à coulisse, les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques sont mesurés et l'interprétation en Sensible (S) Intermédiaire (I) ou Résistante (R) est effectuée selon les critères définis par le CA-SFM.

# Résultats

---

*Et Discussion*

## I. Résultats

Notre étude a porté sur 30 isolats d'entérobactérie collectées durant une période allant de 14 février jusqu'à 07 mars 2016, à partir 4 échantillons du fromage traditionnel (Jben) fabriqué au niveau des laiteries traditionnelles de la ville de Tébessa. Cette étude a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie appliquée, Département de Biologie, Université Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-.

### I.1. Isolement et identification

Un total de 30 isolats ont été isolées et purifiées sur milieu gélose nutritive (GN) (Tableau n°09).

**Tableau n°09 : Codes des isolats et leur milieu gélosé (GN)**

Milieu	Code des isolats
GN	01 -02- 03 -04 -05- 06- 07- 08- 09 -10- 11- 12 -13- 14- 15 -16 -17 18- 19- 20- 21- 22- 23- 24 -25- 26- 27 -28 -29- 30

### I.2. Observation macroscopique des colonies

Les observations des boites incubées montrent qu'il y a une apparition des colonies différentes. Le tableau n°10 récapitule les principaux caractères des différents types de colonies observées.

**Tableau N°10: Les principaux caractères des différents types de colonies observées.**

Description Milieu	La taille	La forme	L'aspect de la surface	L'opacité	La consistance	La couleur
VRBG	±0,5 mm	Ronde bombée	Lisse	Translucide	Crémeuse	Rouge
Mac Conky	±0,5 mm	Ronde bombée ( régulier ou irrégulier)	Lisse	Opaque	Crémeuse, laiteuse	Jaune, incolore

**I.3.Observation microscopique des colonies :**

**Tableau N° 11 : Les résultats de l'observation microscopique**

<b>Groupe bactériens</b>	<b>Isolat</b>	<b>Forme</b>	<b>Coloration de gram</b>
<b>Entérobactérie</b>	01-02-03-04-05- 06-07-08-09-10- 11-12-13-14-15- 16-17-18-19-20- 21-22-23-24-25- 26-27-28-29-30	La forme de tout les isolats sont :  Bacille de taille moyen ou grande, isolée ou en amas.  Cocobacille, diplocoque isolée ou en amas.  Diplobacille, isolée ou en amas.	Gram (-)

**I.4. Identification spécifique des entérobactéries**

**Résultats des galeries API 20 E :**

Dans notre étude ,l'analyse microbiologique qui a porté sur 4 échantillons de fromage frais Jben nous a permit d' isolé et purifié des isolats suspectes, par la suite nous avons réalisé une identification en utilisant le système miniaturisé pour chacun isolats . Les résultats d'identification sont rapportés sur le **tableau n°12**

Tableau N° 12 : Résultats de la manipulation avec l'APIE 20

Isolat	Test														Les espèces							
	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO		SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	
01	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
02	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithiolytica</i>
03	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
04	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Kluyvera spp</i>
05	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
06	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
07	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter arogenes</i>
08	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
09	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>Serratia liquefaciens</i>
10	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Kluyveras spp</i>
11	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
12	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithiolytica</i>
13	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
14	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornithiolytica</i>
15	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
16	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>

(-) : négative

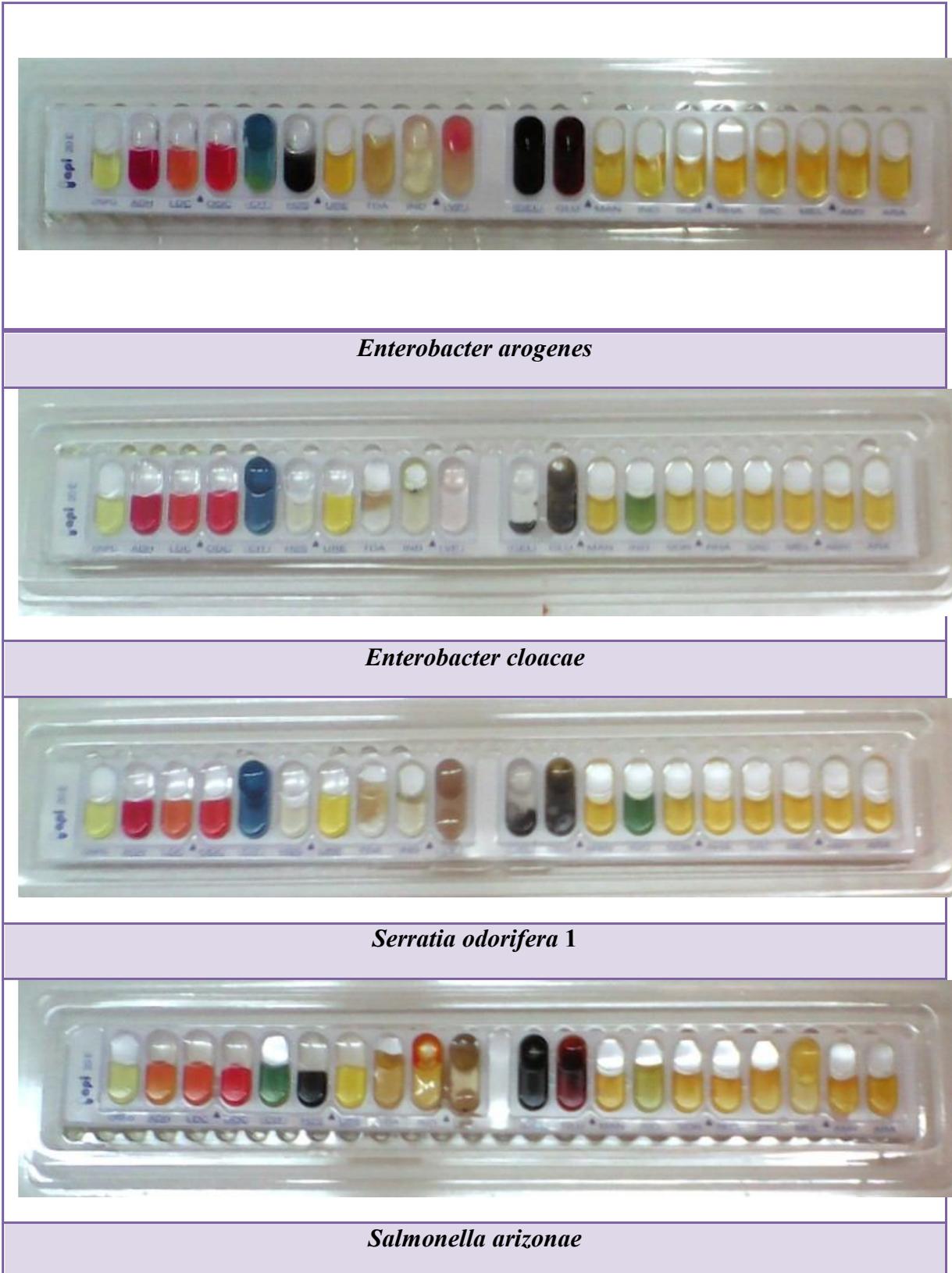
(+) : positive

Suite de tableau N°12

Test / Isolat	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	L'espèce	
17	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
18	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella ornitholytica</i>
19	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Salmonella arizonae</i>
20	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
21	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
22	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odoriferus 1</i>
23	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella terrigena</i>
24	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia liquefaciens</i>
25	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter sakazakii</i>
26	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>
27	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Kluyvera spp</i>
28	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter arogenes</i>
29	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Citrobacter bracki</i>
30	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera 1</i>

(-) : négative

(+) : positive



Figur 09 : Illustration de l'identification par galerie API 20 E des espèces d'entérobactéries isolées

Tableau N° 13 : Fréquence de souches isolées des produits examinés.

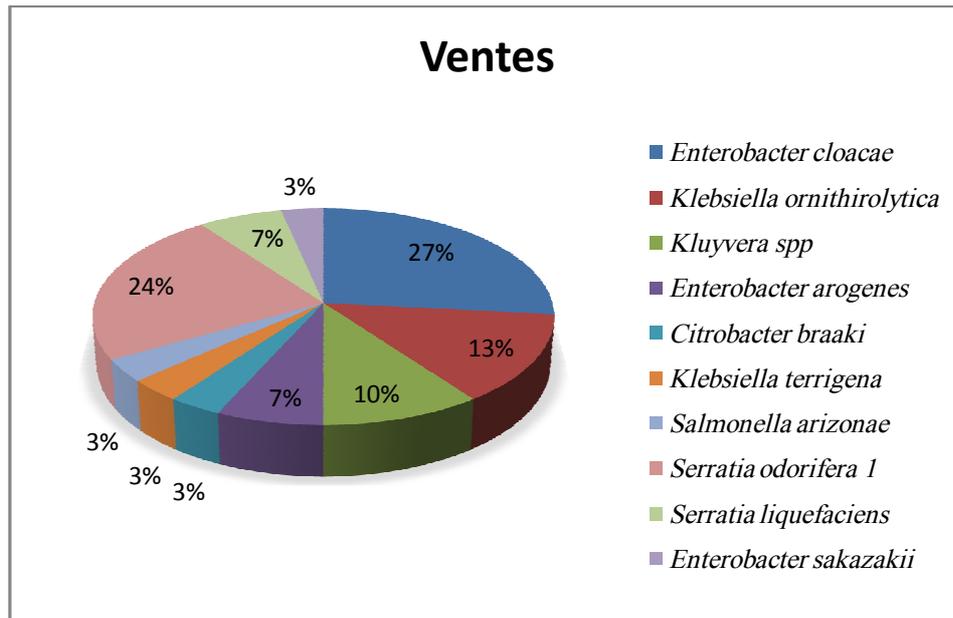
Souches	Effectif	Fréquence %
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	27%
<i>Serratia odorifera</i> 1	7	24%
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	4	13%
<i>Kluyvera spp</i>	3	10%
<i>Serratia liquefaciens</i>	2	7%
<i>Enterobacter arogenes</i>	2	7%
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	3%
<i>Salmonella arizonae</i>	1	3%
<i>Klebsiella terrigena</i>	1	3%
<i>Citrobacter braakii</i>	1	3%
<b>Totale</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>

Donc, 30 souches d'entérobactéries ont été identifiées, parmi un total de 40 bacilles à Gram négatif, avec une fréquence d'isolement de 75% (30 /40).

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'entérobactéries isolées, a montré une prédominance d'*Enterobacter cloacae* avec 8 souches soit 27%, suivie de *Serratia odorifera* 1 avec 7 souches (23%), de *Klebsiella ornithiolytica* avec 4 souches (13%) et de *Kluyvera spp* avec 3 souches (10%). Les différentes espèces d'*Enterobacter* sont représentées par *Enterobacter cloacae* 8 souches soit 27%, *Enterobacter arogenes* (2 souches ; 7%) et *Enterobacter sakazakii* (une souche ; 3%), aussi les différentes espèces de *Klebsiella* sont *Klebsiella ornithiolytica* et *Klebsiella terrigena* (une souche, 3%), et alors pour *Serratia* il y a deux espèce *Serratia odorifera* 1 et *Serratia liquefaciens* (2 souches ; 7%). Les autres entérobactéries viennent

en dernière position avec 2 isolats soit 3% et qui correspond à *Citrobacter braaki* et *Salmonella arizonae*.

La figure N°11 : représente la répartition de l'ensemble des entérobactéries isolé. toutefois nous avons constaté que l'espece bactériennes les fréquemment isolées étaient : *Enterobacter cloacae* (27%), *Serratia odorifera 1* (24%), *Klebsiella ornithinolytica* (13%), et *Kluyvera spp* (10%).



**Figure N°10 : Répartition de l'ensemble des souches des entérobactéries isolées du produit analysé**

### II.L'antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur gélose Muller Hinton et interprété après la mesure des diamètres d'inhibition selon les recommandations du - Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CA-SFM 2014 (**Annexe VI**).

L'interprétation de test de l'antibiogramme a été faite par la méthode de détermination de la sensibilité d'une souche de bactérie vis-à-vis de divers antibiotiques. L'interprétation des résultats est simple ce qui explique son intérêt :

-Une souche est dite sensible à un antibiotique si sa croissance peut être réduite par un traitement à base de cet antibiotique

-Une souche est dite intermédiaire à un antibiotique si elle n'est pas atteinte par un traitement standard ; mais si une augmentation de la dose d'antibiotique permet de détruire ce germe

-Une souche est dite résistante à un antibiotique si elle ne peut être atteinte par ce traitement même en augmentant les doses d'antibiotique.

Les résultats de l'antibiogramme, sont reportés dans le tableau n° 14.

Tableau N° 14 : les résultats de l'antibiogramme pour toutes les souches isolées

ATB / Souches	code	AMP	TIC	FOX	CTX	CAZ	IMI	GM	AK	OFX	NA	C	F	TE	SXT
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	S	R	R	S	R	R	S	S	S	I	S	R	R	S
	8	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R
	11	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	I	R
	13	R	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	R	I	S
	16	R	S	R	S	I	R	S	S	S	I	S	R	R	S
	17	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	I	I
	20	R	S	R	S	S	R	S	S	I	R	S	R	R	I
	21	R	R	R	R	R	R	S	S	I	S	S	S	R	S
<i>Serratia odorifera</i> 1	15	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R
	22	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R	S	R
	26	S	R	R	S	I	R	S	S	R	I	S	R	R	S
	30	R	S	R	S	S	R	S	S	S	I	S	R	R	S
	03	R	R	S	I	R	S	S	S	S	S	R	I	S	R
	05	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R
	06	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R

Suite de tableau N° 14 :

ATB Souches	code	AMP	TIC	FOX	CTX	CAZ	IMI	GM	AK	OFX	NA	C	F	TE	SXT
<i>Klebsiella ornitholytica</i>	02	R	R	R	R	R	I	R	S	S	S	S	R	I	I
	12	R	S	R	S	R	I	S	S	R	S	S	S	S	S
	18	R	R	R	S	R	R	S	I	R	S	S	S	R	S
	14	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	R	S
<i>Kluyvera spp</i>	27	R	R	R	R	R	R	S	S	R	I	S	S	I	R
	04	R	R	R	S	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S
	10	R	R	R	S	I	R	S	S	I	S	S	S	S	S
<i>Serratia liquefaciens</i>	24	R	R	R	S	R	R	S	I	S	S	S	R	R	R
	09	R	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter arogenes</i>	28	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S
	07	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S
<i>Enterobacter sakazakii</i>	25	R	S	R	S	R	I	S	R	R	S	S	S	I	S
<i>Citrobacter braaki</i>	9	R	R	R	R	R	R	S	S	I	I	S	S	R	R
<i>Salmonella arizonae</i>	19	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	I
<i>Klebsiella terrigena</i>	23	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	I	S

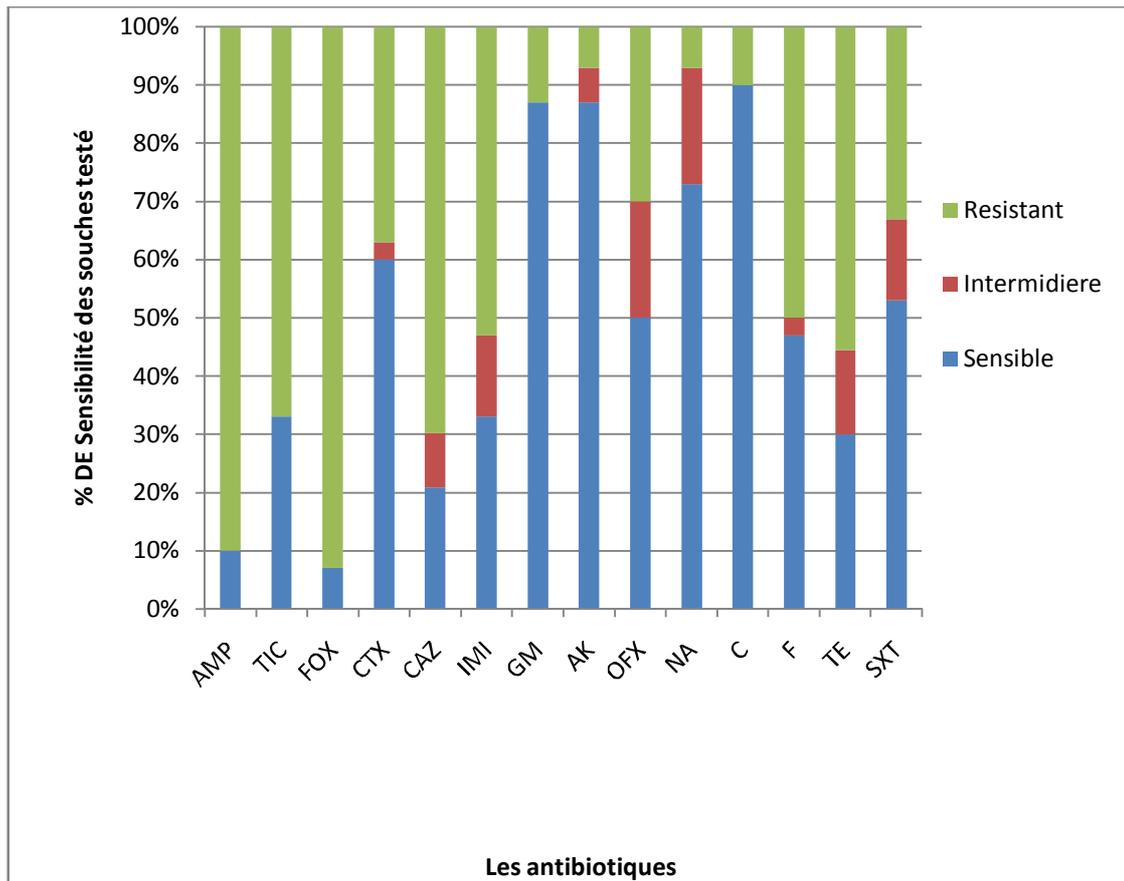


Figure N<sup>0</sup>11: Profil de sensibilité des souches testé des entérobactéries aux antibiotiques

Selon les résultats présentés dans le profil de sensibilité des Souches testées des entérobactéries aux antibiotiques, on peut dire que la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées est comme suit: - Chloramphénicol (90%), Gentamicine et Amikacine (87%), Ofloxacine (50%), Acide nalidixique (73%), Triméthoprime- Sulfaméthoxazole (53%), Cefotaxime (60%), Tétracycline (27%), Ticarciline (33%), Nitrofuranes (47%), Imipénème (30%), Cefazidime (20%), Ampicilline (10%), et Céfoxitine (7%) (Figure N<sup>0</sup>12).

## II.1. Sensibilité des germes aux antibiotiques :

### II.1.1. Sensibilité d' *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, et *Enterobacter arogenes* aux antibiotiques

Les résultats de ce test sont illustrés dans le tableau 15.

**Tableau N<sup>o</sup>15 : Profil de sensibilité aux antibiotiques testés sur *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, et *Enterobacter arogenes***

Souches  Antibiotiques	<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Enterobacter sakazakii</i>		<i>Enterobacter arogenes</i>	
	Nombre de souches	Sensibilité %	Nombre de Souches	Sensibilité %	Nombre de souches	Sensibilité%
Ampicilline	1	14%	0	0%	1	50%
Ticarcline	4	50%	1	100%	1	50%
Céfoxitine	1	14%	0	0%	0	0%
Cefotaxime	5	63%	1	100%	1	50%
Cetazidime	1	14%	0	0%	0	0%
Imipénème	4	50%	0	0%	0	0%
Gentamicine	8	100%	1	100%	1	50%
Amikacine	8	100%	1	100%	0	0%
Ofloxacine	6	71%	0	0%	1	50%
Acide nalidixique	5	57%	1	100%	2	100%
Chloramphénicole	7	86%	1	100%	1	50%
Nitrofurames	1	14%	1	100%	1	50%
Tétracycline	0	0%	0	0%	0	0%
Triméthoprime-Sulfanéthoxazol	4	50%	1	100%	2	100%

- ✓ Les antibiotiques les plus actifs sur nos souches étaient : la gentamicine, L'amikacine, acide nalidixique, chloramphénicole, Ticarciline, Cefotaxime et Triméthoprime-Sulfanéthoxazol.
- ✓ Les antibiotiques les moins actifs sur nos souches étaient : Céfoxitine, Cefazidime, Tétracycline , et Ampicilline.

Nos résultats se concordent avec ceux rapportés dans une étude iranienne **Jalalpoor, (2011)** où les taux de sensibilité ont été très élevés surtout au CTX qui était actif à 74,5%.

**II.1.2. Sensibilité d' *Serratia liquefaciens*, *Serratia odorifera* 1, et *Salmonella arizonae* aux antibiotiques**

**Tableau N° 16 : Profil de sensibilité aux antibiotiques testés sur *Serratia liquefaciens*, *Serratia odorifera* 1, et *Salmonella arizonae***

Souches	<i>Serratia odorifera</i> 1		<i>Serratia liquefaciens</i>		<i>Salmonella arizonae</i>	
	Nombre de Souches	Sensibilité %	Nombre de souches	Sensibilité %	Nombre de Souches	Sensibilité %
Ampicilline	1	14%	0	0%	0	0%
Ticarciline	1	14%	1	50%	1	100%
Céfoxitine	1	14%	0	0%	0	0%
Cefotaxime	2	29%	2	100%	1	100%
Cetazidime	2	29%	1	50%	1	100%
Imipénème	2	29%	0	0%	1	100%
Gentamicine	5	71%	2	100%	1	100%
Amikacine	6	86%	1	50%	1	100%
Ofloxacine	4	57%	2	100%	1	100%
Acide nalidixique	4	57%	2	100%	1	100%
Chloramphénicole	6	86%	2	100%	1	100%
Nitrofurames	2	29%	1	50%	1	100%
Tétracycline	4	57%	1	50%	0	0%
Triméthoprime-Sulfanéthoxazol	2	29%	1	50%	0	0%

✓ Les antibiotiques les plus actifs sur nos souches de *Serratia odorifera* 1, *Serratia liquefaciens* étaient : L'amikacine, Tétracycline, Acide nalidixique, Gentamicine, Ofloxacine, et Chloramphénicole ; au même temps les antibiotiques les plus résistants étaient : Céfoxitine, Imipénème, Ticarciline, Ampicilline.

✓ Les antibiotiques les plus actifs sur nos souches de *Salmonella arizonae* étaient : L'amikacine, Gentamcine, Ofloxacine, Ticarciline, Cetazidime, Acide nalidixique, Chloramphénicole, Nitrofurame, Imipénème , Ofloxacine ;en revanche les antibiotiques les moins actifs sur nos souches étaient : Céfoxitine, , Ampicilline, Tétracycline et Triméthoprime- Sulfanéthoxazol.

**II.1.1. Sensibilité de *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Kluyvera spp*, et *Citrobacter braakii* aux antibiotiques**

**Tableau N°17 : Profil de sensibilité aux antibiotiques testés sur *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Kyuvera spp*, et *Citrobacter braakii***

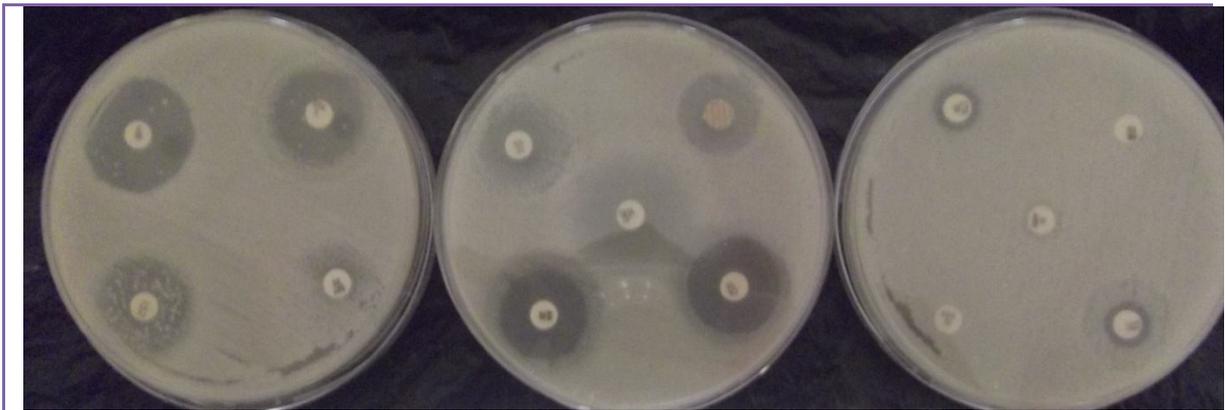
Souches Antibiotiques	<i>Klebsiella terrigena</i>		<i>Klebsiella ornithinolytica</i>		<i>kluyvera spp</i> ,		<i>Citrobacter braakii</i>	
	Nombre de souches	Sensibilité %	Nombre de Souches	Sensibilité %	Nombre de souches	Sensibilité %	Nombre de Souches	Sensibilité %
Ampicilline	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Ticarciline	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%
Céfoxitine	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Cefotaxime	1	100%	3	75%	2	67%	0	0%
Cetazidime	1	100%	0	0%	0	0%	0	0%
Imipénème	1	100%	1	25%	1	33%	0	0%
Gentamcine	1	100%	3	75%	3	100%	1	100%
Amikacine	1	100%	3	75%	3	100%	1	100%
Ofloxacine	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%
Acide nalidixique	1	100%	4	100%	2	67%	0	0%
Chloramphénicoe	1	100%	4	100%	3	100%	1	100%
Nitrofurames	0	0%	3	75%	3	100%	1	100%
Tétracycline	0	0%	1	25%	2	67%	0	0%
Triméthoprime-Sulfanéthoxazol	1	100%	3	75%	2	67%	0	0%

✓ Les antibiotiques les plus actifs sur nos souches de étaient : la gentamycine, L'amikacine ,acide nalidixique, nitrofurames ,chloramphénicole, cefotaxime et Triméthopprime-Sulfanéthoxazol.

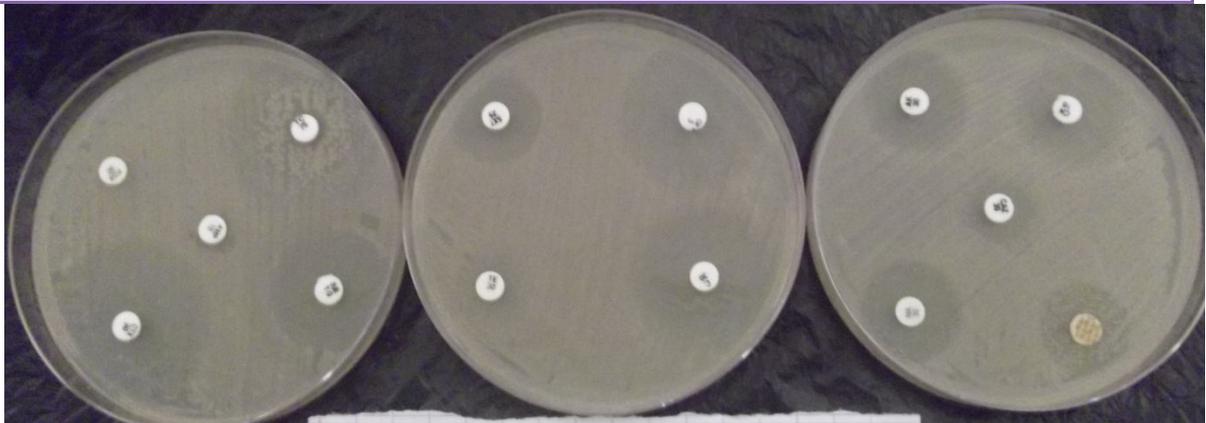
Les antibiotiques les plus résistants étaient : Céfoxitine, Ofloxacine ,Ticarciline , Cetazidime , et Ampicilline.

*Klebsiella* est une entérobactérie dotée d'une grande importance dans l'hospitalisme infectieux (**Abid et al., 2007**). Toutes nos souches de Kp sont se montrent sensibles aux antibiotiques Cefotaxime, Cetazidime, Imipénème, Gentamcine, Amikacine , Acide nalidixique, Chloramphénicol et Triméthopprime-Sulfanéthoxazol, ce résultat est similaire à celui rapporté par **Abid et al., (2007)**.

Concernant les mêmes espèces, **Jalalpoor, (2011)** a rapporté des taux de sensibilité qui dépassent largement ceux trouvés dans notre travail : CTX (71% contre seulement 5,13% dans notre cas), GM et COT (100% contre 69,23% et 51,28%), TE (66% contre 41,03%).



*Klebsiella ornithinolytica*



*Serratia odorifera 1*



*Salmonella arizonae*

Figure N° 12 : Sensibilité aux ATB des isolats des entérobactéries (Photo prise au laboratoire de microbiologie, Département de Biologie, Université Cheikh Larbi Tebessi –Tebessa

Le profil bactériologique des isolats est marqué par tout les souches de type entérobactéries avec un pourcentage de 100%.

Au cours de cette étude, nous sommes intéressés à des prélèvements à partir de fromage frais artisanale Jben, afin d'évaluer le profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries.

Après examen, nous avons identifié les germes par leurs caractères morphologiques, culturels et biochimiques (API20E). Nous avons testés leur sensibilité aux antibiotiques par méthode d'inondation en utilisant le milieu Müeller- Hinton et des disques antibiotiques de diagnostic-pasteur. Nous avons déterminé la sensibilité des germes aux antibiotiques à partir du diamètre des zones d'inhibitions qui sont mesurées avec un double décimètre. L'interprétation du teste de sensibilité a été fait en fonction des critères de l'antibiogramme de la société française de microbiologie Les souches à sensibilité intermédiaires n'ont pas été prises en compte. Ce travail a abouti à des résultats qui amènent les commentaires et discussions suivants:

#### **Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques :**

Les entérobactéries étaient résistantes aux bêta-lactamines testés dont le taux varie selon l'espèce bactériennes et la molécule d'antibiotique, cependant les antibiotiques les plus marqués par cette résistance étaient l'imipénème et Cefotaxime .

#### **Sensibilité des *Enterobacter* aux antibiotiques :**

Nos souches d'*Enterobacter* étaient sensibles aux aminosides, fluoroquinolones, Quinolones, Phénicoles et Sulfamides-trimethoprime. En comparaison avec le travail de **Makan D en 2007**. Ce dernier que ces souches d'*Enterobacter* étaient également sensibles aux aminosides et aux quinolones. D'autre part nos résultats sont confirmés par ceus de **Diall, (1989)**.

Les souches d'*Enterobacter cloacae* avait une grande sensibilité pour les aminosides (100%), ce résultat est confirmé celui signalé par étude de **Abir R en 2014** et **Ndiaye A en 2005**. On notait aussi une assez remarquable sensibilité pour la Céfotaxime (63%), Quinolones (57%) et pour Sulfamides-trimethoprime, l'imipénème, et ticarciline avec des taux de (50 %) ; par contre les souches en question présentaient une grande résistance pour l'ampicilline, le céfoxitine, et nitrofurames (86%), tétracycline (63%), et cetazidime

(57%). Ces résultats sont presque similaires à ceux trouvés par **Souna (2010)** qui a constaté que les souches qu'il avait isolées présentent des taux de sensibilité remarquables pour imipénème et grand résistant pour bêta lactamine.

Dans notre travail, *Enterobacter sakazakii* a une grande sensibilité aux aminosides, Quinolones, pénicilline, nitrofuranes, ticarciline, Sulfamides-triméthoprime, cefotaxime, avec des taux de 100 % ; par contre elle présentait une grande résistance pour l'ampicilline, céfoxitine, cétazidime, l'ofloxacine (100 %).

*Enterobacter arogenes* avait une grande sensibilité aux Quinolones et Sulfamides-triméthoprime (100%), avec une bonne sensibilité pour la gentamycine, l'ampicilline, ticarciline et chloramphénicol, l'ofloxacine, céfotaxime, et nitrofuranes avec des taux de (50 %). par contre elles présentaient une grande résistance pour, l'amikacine le céfoxitine, Tétracycline, l'imipénème, et cétazidime (100%).

#### **Sensibilité des *Salmonella* aux antibiotiques :**

Les antibiotiques les plus actifs sur *Salmonella arizonae* étaient l'amikacine, Gentamicine, Ofloxacine, Ticarciline, Cétazidime, Acide nalidixique, Chloramphénicol, Nitrofurane, Imipénème, Ofloxacine .

#### **Sensibilité des *Kluyvera* spp aux antibiotiques :**

Les souches de *kluyvera spp* que nous avons isolées étaient sensibles aux aminosides, aux Phénicoles, Nitrofuranes et à Quinolones ; par contre elles étaient résistantes à bêta-lactamines testées. Ces bactéries sont rarement isolées (**Lemozy et al., 1985**).

#### **Sensibilité des *Citrobacter* aux antibiotiques :**

Une souche de *Citrobacter braakii* était résistante à bêta-lactamines, et était aussi résistante à la Tétracycline et à Sulfamides-triméthoprime qu'on a utilisé ; par contre une bonne sensibilité aux aminosides, Fluoroquinolones, Phénicoles, Nitrofuranes et aux Fluoroquinolones.

#### **Sensibilité des *Serratia* aux antibiotiques :**

Nos souches de *Serratia* étaient sensibles aux aminosides, aux fluoroquinolones, Tétracycline et à Phénicoles par contre elles présentaient une grande résistance vis-à-vis des bêta-lactamines. *Serratia liquefaciens* étaient sensibles pour Quinolones, Phénicoles,

céfotaxime, l'ofloxacine, et Gentamicine (100 %), le même résultat est obtenu avec l'amikacine, Sulfamides-triméthoprime, nitrofuranes, cétazidime, tétracycline, et ticarciline avec des taux de (50 %) respectivement, par contre elles présentaient une grande résistance pour l'ampicilline, le céfoxitine (100%) et l'imipénème (50%).

*Serratia odorifera* 1 avait une grande sensibilité pour la gentamycine (71%), l'amikacine et chloramphénicol (86%), une bonne sensibilité pour les Quinolones, l'ofloxacine, et la Tétracycline, (57 %). Contrairement à ce résultat, dans une étude récente menée par **Fouad D et al en 2013**, les souches isolées avaient une bonne résistance aux Quinolones, l'ofloxacine, et Tétracycline, mais elles présentaient une grande résistance pour l'ampicilline, le céfoxitine, céfotaxime (57%) et ticarciline (86%), l'étude de **Fouad D., et al (2013)** à montrer le même résultat, et aussi une grande résistance pour l'imipénème, Sulfamides-triméthoprime (71%), nitrofuranes, et cétazidime.

#### **Sensibilité des *Klebsiella* aux antibiotiques :**

Nos souches de *Klebsiella* étaient sensibles aux aminosides testés, et ce résultat concorde avec celui obtenu par **Mme Bathily (2001)**, ces souches étaient également sensibles aux Carbapénèmes, Sulfamides-triméthoprime, et aux Quinolones. D'autre part, toutes les souches de *Klebsiella* isolées ont été résistantes à l'ampicilline, Ticarciline, Céfoxitine. Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que les *Klebsiell*es ont une résistance naturelle aux pénicillines.

Une grande sensibilité marquée chez les souches de *Klebsiella ornithinolytica* pour quinolones et phénicoles (100 %), et sensibilité avec un taux de (75 %) pour les aminosides, sulfamides-triméthoprime, nitrofuranes, céfotaxime, par contre elles présentaient une grande résistance pour l'ampicilline, le céfoxitine et pour le cétazidime (100%). Nous avons aussi remarqué une résistance modérée pour ticarciline et l'ofloxacine (75%), tétracycline (50%), et l'imipénème (25%).

*Klebsiella terrigena* a une grande sensibilité aux l'imipénème, néanmoins ce résultat se rapproche de celui trouvé dans une étude similaire réalisée par **Kounta (1999)**. En revanche cette souche se montre sensible avec les aminosides, Quinolones, Phénicoles, céfotaxime, cétazidime, et Sulfamides-triméthoprime avec des taux de 100 % respectivement ; par contre elle présentait une grande résistance pour l'ampicilline, nitrofuranes ticarciline, l'ofloxacine, et céfoxitine (100 %).

# **C**onclusion

---

*Et Perspectives*

## Conclusion et perspective

Ce travail, réalisé dans la période de Février - Avril de l'année 2016 avait pour objectif de définir le profil de sensibilité des souches isolées des échantillons de fromage artisanale (Jben), fabriqué au niveau des laiteries traditionnelles de la ville de Tébessa.

Alors, dans cette étude 30 souches d'entérobactéries ont été identifiées au laboratoire de microbiologie sur la base des tests d'identifications morphologiques, physiologiques et biochimiques. Les résultats révèlent d'abord une certaine diversité pour les espèces d'entérobactéries identifiées. Les espèces les plus prédominantes *Enterobacter* (37%), suivie de *Serratia* (31%), de *Klebsiella* (16%) et de *Kluyvera spp* (10%). Les différentes espèces d'*Enterobacter* sont représentées par *Enterobacter cloacae* (27%), *Enterobacter arogenes* (7%) et *Enterobacter sakazakii* (3%), cependant les *Klebsielles* sont identifiées comme *Klebsiella ornithiolytica* et *Klebsiella terrigena* (3%).

Dans notre étude nous avons essayé aussi de déterminer le profil de la sensibilité des nos souches collectées et identifiées vis-à-vis 14 antibiotique par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé, selon les normes du CA-SFM. Les résultats obtenus nous ont permis de constater que :

✓ les souches de bacilles à Gram négatif isolées sont marquées par une fortes sensibilités vis-à-vis des antibiotiques phenicoles (90%), les aminosides (87%), Quinolones (73%), Cefotaxime (60%) , Triméthoprim- Sulfanéthoxazol (53%), et Fluoroquinolones (50%), ; par contre la sensibilité le moins élevée a été observé avec Nitrofurames (47%), Ticarciline (33%), Imipénème (30%), Tetracycline (27%), Cetazidime (20%).

✓ Les antibiotiques les plus actifs sur nos souches d'*Enterobacter* étaient : la gentamycine, l'amikacine, acide nalidixique, chloramphénicole, Ticarciline, Cefotaxime et Triméthoprim-Sulfanéthoxazol.

✓ Les antibiotiques les plus actifs sur nos souches de *Serratia* et *Salmonella arizonae* étaient : l'amikacine, Tetracycline, Gentamcine, acide nalidixique, Ofloxacin, et Chloramphénicole.

✓ Les antibiotiques les plus actifs sur les autres souches de *Klebsiella*, *Kluyvera spp*, et *Citrobacter braakii* étaient : la gentamycine, l'amikacine, chloramphénicole, et Nitrofurames. Cefotaxime et Triméthoprim-Sulfanéthoxazol.

Les résultats obtenus ouvrent des perspectives futures:

- Mener une étude prospective sur une large gamme d'échantillons.
- Etudier les mécanismes de la multi résistance aux antibiotiques des souches isolées.
- Caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques.

# **R**éférences

---

*Bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

1. Abd-El-Aziz, S. et Ait kaci, F. (1992). Contribution à l'étude physico-chimique et Microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach, Alger. 67 P.
2. Abd-El-Malek, Y. (1978). Traditional Egyptian dairy fermentation. In: Stantan, W.R., Da Silva, E.J. (Eds), Global Impact of Food Microbiology (GIAM) – State of the Art: GIAM and its Relevance to Development in Developing Countries. University of Malaya Press, Kuala Lumpur. pp. 198-208.
3. Abid, F., Boutefnouchet, N., Dekhil, M., Bouzerna, N., (2007). *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, Algérie. Scientific study & Research VII (2) : 199-214.
4. Abir, R. (2014). Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses. Thèse. Faculté des sciences. Université badji mokhtar – annaba.
5. Aissaoui, O., Zitoun, M., et Zidoune, N., (2006). Le fromage traditionnel algérien «Bouhezza». Séminaire d'Animation Régional. Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments. INSAT-Tunis. Tunisie 27-28-29 Novembre.
6. Aissaoui, Z. (2004). Le fromage traditionnel algérien «bouhezza». Séminaire d'animation régional. "Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments", INSAT-Tunis (communication orale), Tunisie/27-28-29 novembre Actes des sommaires .pp. 118 - 124.
7. Amhis, W. (2004). « Le genre *Proteus*, épidémiologie, bactériologie, résistance aux antibiotiques et biologie moléculaire». Thèse de DESM.
8. Ansart, S., Xavier, N., Yvon, L., Penneç, Michel, G., (2005). Quand - utiliser une fluoroquinolone systémique ? Revue 29609 Brest Cedex.
9. Avril, J.L *et al.* (2000). Bactériologie clinique. 2ed .Ellipses, Paris. pp. 171-177

### B

10. Bacon, R.T. *et al.* (2003). Comparative analysis of acid resistance between susceptible and multi-antimicrobial-resistant *salmonella* strains cultured under stationary-phase acid tolerance-inducing and non-inducing conditions. Journal of food Protection. 66: 732-740.
11. Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemaa, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E., Kihal, M., (2004). Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*. 21: 343–349.
12. Bagamboula, CF., Uyttendaele, M., Debevere, J., (2002). Acid tolerance of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Journal of Applied Microbiology. 93:479–486
13. Bagley, S.T., Seidler, R.J., Talbot, H.W.J., and Morrow, J.E., (1978). Isolation of *Klebsiella* from within living wood. Appl Environ Microbiol. 36: 178-185.
14. Basilio, J.A. (2009). *Serratia*. eMedicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Sur le lien : <http://emedicine.medscape.com/article/228495-overview>.

15. Bathily, M.D. (2003) Sensibilité aux antibiotiques des bactéries à Gram négatifs isolées d'infections urinaires de 1999 à 2001. Thèse Pharmacie, 03P3, Bamako.
16. Bencharif, A. (2001). Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie états des lieux et problématiques. Options Méditerranéennes Série B. Etude et recherches. 32 :25-45.
17. Bendimerad, N. (2013). Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de lait crus recueillis dans les régions de l'ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type Jben. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen. Algérie. 74 P.
18. Benkerroum, N., et Tamime, A.Y. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Journal of Food Microbiology*. 21: 399-413.
19. Benkerroum, N. (2013). Traditional Fermented Foods of North African Countries: Technology and Food Safety Challenges With Regard to Microbiological Risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 12:54-89.
20. Benkerroum, N., Tantaoui Elarki, A., Elmarakchi, A., (1984). Hygienic quality of marocain lben. *Microbiol. Alim. Nut.* 2 :199-206.
21. Benmouden, A., et Hakkou, F. (2007). Antibiotiques : Mécanismes d'action et de résistance. Service de Pharmacologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc. *La Chronique Ibn Rochd*. 1: 46-54.
22. Bettache, G., Adjoudj, F., Hadadj, M., kiha, M. (2012). Isolation and identification of Lactic Acid Bacteria from Dhan, a traditional Butter and their major technological traits, *world applied sciences journal* 17(4). pp.480-488.
23. Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D., and Webb, C., (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res. Int.* 36: 527-543.
24. Bonnet, R. (2006).  $\beta$ -Lactamines et entérobactérie. In Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. *Antibiogramme*. Edition ESKA. pp.141-177
25. Boubekri, K., et Ohta, Y. (1996). Antimutagenicity of lactic acid bacteria from *El-Klila* cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 72: 397-402.
26. Branger, C.G., Torres-Escobar, A., Sun, W., Perry, R., Fetherston, J., Roland, K.L., et Curtiss, R., (2009). Oral vaccination with LcrV from *Yersinia pestis* KIM delivered by live attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium elicits a protective immune response against challenge with *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*. *Vaccine*. 27(39): 5363-5370.
27. Brule, G., Lenoir, J., et Remeuf, F., (1997). La micelle de caséine et la coagulation du
28. Lait in le fromage. Ed., a. Eck, 3<sup>ème</sup> ed. technique et documentation lavoisier, paris, pp.7-41.
29. 28. Bryskier, A. (1999). Evolution de la chimiothérapie antibactérienne. Antibiotiques agents
30. antibactériens et antifongiques. Ed Ellipses. Paris. 747 P.

## C

31. CA-SFM. 2010. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. [www.sfm-microbiologie.org](http://www.sfm-microbiologie.org).
32. 30.Chander, Y., Goyal, S.M. et Gupta, S.C., (2006). Antimicrobial resistance of *Providencia* spp. isolated from animal manure. *The Veterinary Journal*. 172: 188-191.
33. Changeur, N., Cherruault, M. (2009). Pharmacologie des aminosides(aminoglycosides). 3P.
34. Chopra, I.(1998). Research and developpement of antibacterial agents. *Current opinion in Microbiology*. 1:495-501.
35. Chou, Y.Y., Chiu, S-K., Lai H-C., et Chang , F-Y., (2009). Tubo-ovarian abscess with *Morganella Morganii* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*. 42: 357- 359.
36. Carattoli, A. (2001).Importance of integrons in the diffusion of resistance.*Veterinary Research*.32: 243-259.
37. Cattoir, V. (2006). Chloramphenicol, fosfomycine, acide fusidique et polymyxines. Chapitre In *Antibiogramme*. 2 ed. Paris. ESKA , P. 359-363.
39. Cattoir, V. (2012). Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Rev Elsevier Masson SAS*.
40. Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., and Garrabé, E., (2004). Bêtalactamines. *EMC Maladies infectieuses*. 1: 129-202.
41. Cerf, O. (2002). Risque bactériens lies aux produits laitiers. *Revue Française des laboratoires*. décembre 2002. N°348.
42. Changeur, N., Cherruault, M. (2009). Pharmacologie des aminosides (aminoglycosides). 3P.
43. Charlier, P., *et al.* (1998). Résistance bactérienne aux  $\beta$ -lactamines. *Synthèse.médecine/sciences*. 14 : 544-555.
44. Chopra, I. (1998). Research and developpement of antibacterial agents. *Current opinion in Microbiology*. 1: 495-501.
45. Chung, K.I., Lim, T.H., Koh, Y., Song, J.H., Kim, W.S., Choi, J., and Mand Aush, Y.H., (1992). Nosocomial pneumonial in medico-surgical intensive care unit. *J Korean Med Sci*. 7: 241-251.
46. Chye, F.Y., Abdullah, A., and Ayob, M.K., (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiol*. 21: 535–541.
47. Cniel. (2006). Produit laitier. *Maison de lait*.
48. Cogan, T. M. (1996). History and taxonomy of starter cultures. In T. M. Cogan and J.-P. Accolas (ed), *Dairy starter cultures*. VCH Publishers, Inc., New York, N.Y.
49. Coulon, J.B., Pradel, P., and Verdier, I., (1995). Effect of forage type on milk yield, chemical composition and clotting properties of milk. *Lait* .75: 513–521.
50. Cuq, J.L. (2007). *Microbiologie Alimentaire*. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.
51. Courvalin, P., Drugeon ,H., Flandrois ,J.P., Goldstein, F., (1991). Bactericidie: aspect théoriques et thérapeutiques ; édition maloine. Pages, 13, 14, 23, 26.

**D**

52. Davison, J. (1999). Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*. 42, 73-91.
53. Dbaibo, G.S. (2000). Old and new targets of antibacterial therapy. *Leb Med J*. 48: 177-181.
54. Denis F. et Ploy M.-C. (2007). Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier Masson. p 316-318.
55. Dharam, P., Narender, R. P., (2007). Indian traditional dairy products: an overview.
56. International Conference on Traditional Dairy Foods. November 14-17. NDRI, KARNAL (INDIA).
57. Dillon, J.C. (2008). Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaude. Edition A. P.G (Agro Paris Tech).
58. Drame, B. (2001). Micro méthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Thèse Pharm. Dakar. N° 86.
59. Drancourt, M. (2007). *Klebsiella pneumoniae*. In Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P. Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA. pp. 1111-1114.
60. Drewnowski, A. (2005). Concept of a nutritious food: Towards a nutrient density score. *Am. J. Clin. Nutr.* 82: 721–732.
61. Duboc, P., and Mollet, B., (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *Int. Dairy J.* 11: 759–768.

**E**

62. El-Baradei, G., Delacroix-Buchet, A., and Ogier, J.C., (2008). Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk. *Int. J. Food Microbiol.* 121: 295–301.
63. Emmanuel, E. (2003). Evaluation des risques sanitaires et ecotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. L'institut national des sciences appliquées de LYON pour l'obtenir de grade du docteur. Formation doctorale: science et technique du déchet école doctoral de chimie de Lyon. pp. 59-60.
64. Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I. and Villani, F., (2009). Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. *Food Microbiol*, 26: 228–231.
65. Euzéby, J.P. (2003). Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. *Serratia*. Sur le liens : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdict/>.

**F**

66. FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.
67. Fauchère, J.L., et Avril, J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing. Paris. pp. 250-260.
68. Ferech, M., and Coenen, S. (2006). "European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe". *J Antimicrob Chemother.* 58(2): 401-407.
69. Fisher, J.F., Meroueh, S.O., and Mobashery, S., (2005). Bacterial resistance to beta-lactam
70. antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chem Rev.* 105: 395-424.
71. Flandrois, J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. et Souny, C.J., (1997). Bactériologie médicale. Pesses Universitaire de Lyon. ISBN : 2729705678.

72. Fouad, D., *et al.* (2013). Recherche de salmonella, listeria et de bactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération dans du fromage akkawi au nord du LIBAN. *Lebanese Science Journal*. Vol. 14, No. 1, 2013
73. Fox, A. T., and Thomson, M. (2007). Adverse reactions to cow's milk. *Paediatr. Child Health*. 17(7): 288–294.
74. Fraser, S. L., Arnett, M., et Sinave, C.P., (2010). *Enterobacter* Infections. *Medicine*
75. *Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Contributor Information and Disclosures.*
76. Frenot, M., Vierling, E. (2001). *Biochimie des aliments diététique du sujet bien portant*, 2<sup>ème</sup> édition. Doin Collection biosciences et technique. Paris. 297p.

## G

77. Gerard, I *et al.* (2003). Introduction à la microbiologie, pp.608-612.
78. Germani, Y. (1994). Apport de l'épidémiologie et des connaissances physiopathologiques sur les *Escherichia coli* agents d'entérites, pour leur diagnostic microbiologique et moléculaire lors de la coproculture. *Ann. Inst. Pasteur*, 5 (3), 175-195.
79. Ghuysen, J.M. (1991). Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. *Annu Rev Microbiol*. 45: 37-67.
80. Gogny, M *et al.* (2001). Classification des principes actif. L'arsenal thérapeutique vétérinaire. Edition le point vétérinaire. pp. 165-168.
81. Gootz, T.D. (1990). Discovery and development of new antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 3(1): 13-31.
82. Goubau, P., et Pellegrins, E. (2000). Repères en microbiologie. Garant, 3Ed. pp.116-117.
83. Goursaud, J. (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. In : LUQUET, F.M.
84. Laits et produits laitiers. 1ère ed. Paris: Technique et documentation Lavoisier, Vol.1, Chap 1.
85. pp. 1-90
86. Grimont, F. & Grimond, P.A.D., (1986). Ribosomal ribonucleic acid gene restriction patterns as potential taxonomic tools. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol*. 137B, 165-175.
87. Gripon, J.C., Desmazeaud, M.J., Le Bars, D., et Bergère, J.L., (1975). Étude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Influence de la présure commerciale. *Le Lait* 55.pp. 502-516.
88. Gueye, O. (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. Thèse de pharm. n° 36.
89. Guiraud, J.P. (1998). *Microbiologie des principaux produits alimentaires*, Microbiologie alimentaire. Ed ©Dunod. Paris.
90. Guiraud, J. P. (2003). *Microbiologie alimentaire*. Dunod. Paris. pp. 84, 85.651.

## H

91. Hamama, A. (1997). Improvements of the manufacture of traditional fermented products in Morocco: case of Jben (Moroccan traditional fresh cheese) In: *Emerging Technology Series-Food Processing Technologies for Africa* (Dirar, H.a., Ed.).pp. 85–102. UNIDO, Vienna.
92. Havarstein, L.S. (1998). Bacterial gene transfer by natural genetic biotransformation. *Acta pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. 106, 84-55.

93. Hebboul, F.Z., Mazouzi, H., Soltani, S., (2005). Etude comparative de la qualité alimentaire entre trois types de lait frais : bovin, caprin, camelin. Mémoire d'ingénieur,  
94. Département de Biologie, Université de Laghouat. 71 pages.  
95. Hermann, T. (2005). Drugs targeting the ribosome. Corrent opinion in microbiologie. 15, 335-366.

I

96. Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E., et Karam, N.E., (2009). Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits. Gr. Y. Aceites, vol 60 n°2, pp 177-183.

K

97. Kim, J. H., Cho, C. R., Um, T. H., Rhu, J. Y., Kim, E.S., Jeong, J. W. et Lee H.R.,  
98. (2007). *Morganella Morganii* Sepsis with Massive Hemolysis. J Korean Med Sci. 22: 1082-1084.  
99. 92.Kounta L.A. (1999). sensibilité et évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques. Thèse. Pharmacie, Bamako.

J

100. Jalalpoor S. Study of the antibiotic resistance pattern among the bacterial isolated from the hospital environment of Azzahra Hospital, Isfahan, Iran. African Journal of Microbiology Research 2011. 5 (20): 3317-3320  
101. Jaureguy, F. (2009). Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. Med Sci. Paris. 25(3): 221-223.  
102. Jerome, J.P., James, S., Stephen, L., (2004). Microbiologie. Dunod, Paris. 212p.

L

103. Lahsaoui, S. (2009). Etude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel algérien(Kilila). Thèse. Département d'Agronomie. Université de Batna. Algérie.  
104. Its Relevance to Development in Developing Countries. University of Malaya Press. Kuala Lumpur. pp. 198-208.  
105. Lamnaouer, D. (2002). Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT. Programme de l'UICN en Afrique du Nord: Phase III. Etat d'avancement. p 3-7.  
106. Lampel, KA., et Maurelli, AT., (2003). *Shigella* species. Ch 11 In: Miliotis MD, Bier JW (eds) International handbook of foodborne pathogens. Marcel Dekker, New York, p. 167-180.  
107. Larouche, G. (2001). Les quinolones : des années soixante à aujourd'hui. Pharmacothérapie théorique. Pharmacothérapie théorique. Pharmactuel.34(2) :40.  
108. Larpent, J.P. (1997). Mémento technique de microbiologie .3eme Ed. Technique et  
109. Documentation. Lavoisier. Paris. 910 pages.  
110. Leclerc, H. (1993). Les *Escherichia coli* responsables de diarrhées. Arch. fr. Pédiatre. 50, 57-67.  
111. Lavigne, J-P. (2007). Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. MB7 :  
112. Bactériologie B6 –Antibiotiques et résistance. Faculté de Médecine Montpellier– Nîmes. p 1-3.

113. Leclercq, M. (2006). *Enterobacter sakazakii*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments AFSSA. p 1-6.
114. Le Minor, L. (1989). *Salmonella*. In Bactériologie médicale (L. Le Minor & M. Véron, édit.). 2ed. Flammarion, Paris, pp. 411-425.
115. Lemouchi, L. (2008). Le fromage traditionnel *bouhezza* : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques de deux fabrications. Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie. 65 p.
116. Lemozy, J., Bismuth, R., et Courvalin, P., (1985). Entérobactéries et aminosides. In: Courvalin, P., Goldstein, F., Phillipon, A., et Sirot, J., eds. L'antibiogramme. Paris: m, p, c. Videom, pp. 111-25.
117. Leroy, F., and De Vuyst, L., (2004). Functional lactic acid bacteria starter cultures for the food fermentation industry, *Trends Food Sci. Technol.* 15: 67–78.
118. Leroy, F. et De Vuyst, L. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Mol. Microbiol. Biotechnol.* 13 : 194-199
119. Levine, MM., Kotloff, KL., Barry, EM., Pasetti, MF., Sztein, MB., (2007). Clinical trials of *Shigella* vaccines: Two steps forward and one step back on a long, hard road. *Nature Reviews Microbiology.* 5:540–553.
120. Levy, S.B. (1998). The challenge of antibiotic resistance. *Scientific American*, 278, 32-39.
121. Leyral, G., Vierling, E., (2001). Microbiologie et toxicologie des aliments. 3<sup>ème</sup> édition. Collection biosciences et techniques .Paris, pp. 77-134.
122. Livermore, D.M. (1995). "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." *ClinMicrobiol Rev.* 8(4): 557-584.
123. Li X-Z, et Nikaido, H., (2004). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drug* ; 64:159-204.
124. Luquet, F.M., et Corrieu, G., (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. 307 p.

## M

125. Mahrouki, S., Ben-Achour, N., Chouchani, C., Ben-Moussa, M., et Belhadj, O., (2009). Identification of plasmid-encoded extended spectrum  $\beta$ -lactamases produced by a clinical strain of *Proteus mirabilis*. *Pathologie Biologie.* 57: 55-59.
126. Makan, D. (2007). sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques dans le district de bamako en 2006. Thèse. Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. Université de Bamako.
127. Mandell, G.L. *et al.* (2009). Principales and practice of infectious diseases. 6<sup>ème</sup> ed. Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA. édition en ligne. [http:// www.ppidon-line.com](http://www.ppidon-line.com).
128. Marcel, M. (2007). Larousse agricole. Edition Larousse, Paris. France, pp. 115-116-374-375-405.
129. Marty, D. S., and Kumar, K. A., (1995). Traditional uses of sorghum and millets. In D. A. V. Dendy (Ed.), *Sorghum and Millet: Chemistry and Technology*. St. Paul Minnesota: AACCC: 185–221.
130. Matagne, A., Dubus, A., Galleni, M., and Frere, J.M., (1999). The beta-lactamase cycle: a tale of selective pressure and bacterial ingenuity. *Nat Prod Rep.* 16: 1-19.

131. Mechai, A. (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat, option : biochimie, Université Badji-Mokhtar- Annaba , pp 03, 63-66.
132. Mechai, A., Debabza, M. and Kirane, D.,(2004). Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International food Research Journal*. 21(6): 2451-2457.
133. Mechai, A., et Kirane, D.,(2008). Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk ‘Raib’ *Afr J Biotechnol* 7:2908-14.
134. Mehlman, I.J., Fismbein, M., Gorbach S.L., Sanders A.C., Eide , E.L. & Olson, J.C., (1976). Pathogenicity of *Escherichia coli* recovered from food. *J . Assoc. off. anal. Chem.*, 59 (1), 67-80.
135. Mekentichi. (2003). Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza).Thèse. Département Agronomie. Université de Batna, Algérie.
136. Mennane, Z., Khedid., K, Zinedine, A., Lagzouli, M., Ouhssine, M. and Elyachioui, M., (2007) . Microbial characteristics of Klila and Jben traditional Moroccan cheese from raw cow's milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2: 23–27.
138. . Menard, J.L., Roussel, P., Masselin-Silvin, S., Puthod, R., Hetreau, T., Foret, A., Houssin, B., Aracil, C. and Le Guenic, M., (2004). Contamination bactérienne d'une litière de stabulation libre paillée: effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In: Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants. *Institut de l'Élevage – INRA*, Paris, 11 : 333–336.
139. Meyer, A., Deñania, J., Bernard, A., (2004). Résistance aux agents antimicrobiens. In Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2<sup>ème</sup> ed. Doin. Biosciences et techniques collection dirigée par Fagarella J et Calos A.
140. Michael., John,M., (2007). Brock : Biologie de Microbiologie. 11ed .Paris. 1047 p.
141. Miller, G. D., Jarvis, J. K., and McBean, L. D., (2007). Contribution of dairy foods to health throughout the life cycle. In *Handbook of dairy foods and nutrition*. 3rd ed. pp. 339–399. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
142. Monfred., Moll, N.,(2002). précis des risques alimentaire, 3<sup>ème</sup> ed. Tec et Doc, Lavoisier.Paris. 131p.

## N

143. Ndiaye, A. (2005). Les enterobacteries secretrices de beta-lactamase a spectre elargi.Thèse.Faculté de medecine, de pharmacie et Dodont-Stomatologie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
144. Nanninga, N. (1991). Cell division and peptidoglycan assembly in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*. 5: 791-795.
145. *Microbiol*. 5: 791-795.
146. Nauciel, C. (2000). Bactériologie médicale: connaissance et pratique. Edition Masson. Paris. pp. 125-146.
147. Ndoye, R. (2004). Algorithme d'identification des Entérobactéries et des bacilles Gram négatifs non fermentaires. Thèse Pharm. n° 83.
148. Nilius, A.M., et Ma, Z., (2002). Ketolides: the future of microlides? *Current Opinion in pharmacology*. 2 : 1-8.
149. Niyogi, SK. (2005). Shigellosis. *The Journal of Microbiology* .43(2):133–143.

150. Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet, S., Bellal, M.M., et Dadie, A., (2009). Characterization of the purified coaguland extracts derived from artichoke flowers (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *International Journal of Food Technology*. 152. 7: 20-29.

153. Nygren, B.L., Schilling, K.A., Blanton, E.M., Silk, B.J., Cole, D.J., Mintz, E.D., (2012). Foodborne outbreaks of shigellosis in the USA, 1998-2008. *Epidemiology and Infection* 141(2): 233-241.

## O

154. Oberman, H., and Libudzisz, Z., (1998). Fermented milks, In: B.J.B. Wood (Ed.). *Microbiology of Fermented Foods*, second ed. vol. 1, Blackie Academic & Professional. pp. 308-350.

155. O'Hara, C.M., Brenner, F.W. et Miller, M., (2000). Classification and identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*. 13: 534-546.

156. Ogawara, H. (1981). Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics. *Microbial. Rev.* 45(4), 591-619.

157. Ouadghiri, M. (2009). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés

158. « Iben » et « jben » d'origine marocaine. Thèse de doctorat. Université Mohammed V – Agdal faculté des sciences rabat. 26-28

## P

159. Pallasch, T.J. (2003). Antibiotic resistance. *Dental Clinics of North America*. 47, 623-639.

160. Paul, S. (2005). *Bactériologie*. 6ed. Dunod. Paris. 515 p.

161. Pelmont J. (2005). Biodégradations et métabolismes: les bactéries pour les technologies de l'environnement. *Collection Grenoble sciences*. L'Editeur : EDP Sciences. p 124-125.

162. Perriere, G. (1992). Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation certains aspects de l'expression des gènes chez *E. coli* UCBL. Thèse Université de Lyon I. France. 14, 77.

163. Pina, P *et al.* (2000). Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques en Unités de soins intensifs. *J Path Biol*. 48: 485-489.

164. Ploy, M.C., Lambert, T., Gassama, A., et Denis, F., (2000). Place des intégrons dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques. *Annales de Biologie Clinique*. 58(4), 439-44.

165. Ploy, M.C., Gassama, A., Chainier, D., et Denis, F., (2005). Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. *Integrans: an antibiotic resistance gene capture system*. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. 20: 343-352.

166. Podschun, R., and Ullmann, U., (1998). *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 11: 589-603.

167. Poznanski, E., Cavazza, A., Cappa, F. and Cocconcelli, P. S., (2004). Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park. *Int. J. Food Microbiol*, 92: 141-151.

**R**

168. Rahali, V., and Menard, J.L., (1991). Influence des variants génétiques de la B-lactoglobuline et de la k-caséine sur la composition du lait et son aptitude fromagère. *Lait*, 71: 275–297.
169. Randazzo, C.L., Caggia, C., and Neviani, E., (2009). Application of molecular
170. Approches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *Journal of Microbiological*
171. *Methods*. 78 :1-9.
172. Rastall, R.A., Gibson, G.R., Gill, H.S., Guarner, F., Klaenhammer, T.R., Pot, B., Reid, G., Rowland, I.R., and Sanders, M.E., (2005). Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications, *FEMS Microbiol. Ecol.* 52: 145–152.
173. Richard, J., & Braquehaye, C., (1985). Origine et nature des bactéries coliformes du lait cru. In Colloque Société française de microbiologie. *Sci. Aliments*. 5 (5), 21-24.
174. Ros, A. (1999). La résistance bactérienne ou le naufrage des antibiotiques. VIIIème assemblée annuelle des CLIN du sud-est. Lyon. 28 octobre.
175. Rosset, R. (2001). Etude du cas particulier de *Listeria monocytogenes*, croissance microbienne et froid.

**S**

176. Sahly, H., Ancken, H., Benedi, V.J., Forestier, C., Fussing, V., Hansen, D.S, Ofek, I., and Podshun, R., (2004). Impairment of Respiratory Burst in polymorphonuclear Leukocytes by Extended-Spectrum Beta-lactamase-Producing Strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 23: 20-26.
177. Salmeron, J., de Vega, C., Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M. and Barron, L.J.R.,
178. (2002). effect of pasteurisation and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for
179. cheese making. *Food Microbiol*, 19: 167-174.
180. Schaafsma, G. (2008). Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *Int. Dairy Sci.* 18(5): 458–465.
181. Schroeder, W.A., Locke, T.R., and Jensen, S.E., (2002). Resistance to beta-lactamase inhibitor protein does not parallel resistance to clavulanic acid in TEM beta-lactamase mutants. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 3568-3573.
182. Sekhsokh, Y., Aarsalane, L., El Ouenass, M., Doublali, T., Bajjou, T. et Lahlou Amine, I., (2007). Bactériémie à *Serratia rubidaea*. *Médecine et maladies infectieuses*; 37 : 287-289.
183. Shanna, L., Han, Y., Zhi-jiang, Z., (2011). Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Research International*. 44: 643–651
184. Sinan Bilgin, S., Eren Olcay, S., et Mehmet Demirtaş, A., (2003). Complication of felon caused by *Morganella morgagni*; case report. *Journal of Ankaramedical School*. 25(4): 199-204.
185. Senoussi, A. (2013). Caractérisation microbiologique de la peau de chèvre utilisée dans la fabrication du fromage traditionnel Algérien « Bouhezza ». Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires. Université Constantine 1.

186. Soryal, K.A., Zeng, S.S., Min, B.R., and Hart, S.P., (2004). Effect of feeding treatments and lactation stages on composition and organoleptic quality of goat milk domiati cheese. *Small Ruminant Re.* 52: 109–116.
187. Souna, D. (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
188. Stanley, G. (1998). Cheeses, In: B.J.B. Wood (Ed.). *Microbiology of Fermented Foods*, second ed.vol. 1, Blackie Academic & Professional. pp. 263–307.
189. Steijns, J. N. (2008). Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix? *Int. Dairy J.* 18: 425–435.
190. Steinkraus, KH. (1996). *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. 2nd Edition Revised and Enlarged. New York, NY: Marcel Dekker. pp. 776.
191. Stone, P.W., Gupta, A., Loughrey, R.N., Della-Latta, P.H., Cimiotti, R.N., Larson, E.,  
192. Rubenstein, D., and Saiman, L., (2003). Attributable Coast And Length Of Stay Of An  
193. Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Outbreak In A  
194. Neonatal Intensive Care Unit. 24: 601-606.
195. Stratton, C.W. (2000). Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Leb Med J*; 48:186-198.
196. 174. Sutra, L., Federighi, M., et Jouve, J. L.,(1998). *Manuel de bactériologie alimentaire*. Ed : Polytechnica, Paris. 308 (6), 81-104.

## T

197. Takahiro, M., Nobuhiko, K., and Toshinao, G., (2007). Milk consumption does not affect body mass index but may have an unfavorable effect on serum total cholesterol in Japanese adults. *Nutr. Res*, 27: 395–399.
198. Tamime, A. Y., and Marshall, V.M.E., (1997). Microbiology and technology of fermented milks, In: B.A. Law (Ed.). *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Blackie Academic and Professional. pp. 57–152.
199. Tolle, A. (1980). The microflora of the udder. *Bull. Int. Dairy Fed*, 120: 4–10.
200. Tribe, G.W. et Rood, M.J., (2002). *Providencia alcalifaciens* in diarrhoeic dogs and cats. *The Veterinary Record*. 150: 386-387.

## Y

201. Yamashita, S.K *et al.* (2000). Microbiological surveillance and parental antibiotic use in a critical care unit. *Can J Infect Dis*. 11, 107-111.

## Z

202. Zamfir, M., Vancanneyt, M., Makras, L., Vaningelgem, F., Lefebvre, K., Pot, B., Swings, J., and De Vuyst, L., (2006). Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Syst. Appl. Microbiol.* 29: 487–495.
203. Zeba, B.(2005). Overview of  $\beta$ -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*.4 (13):15591562.

## V

204. Vander-Stichele, R.H., Elseviers, M.M., Ferech, M., Blot, S., Goossens, H., and European Surveillance of Antibiotic Consumption (ESAC) Project Group.(2006). "Hospital consumption of antibiotics in 15 European countries: results of the ESAC Retrospective Data Collection (1997-2002)". *J Antimicrob Chemother.* 58(1): 159-167.
205. Vilain, A.C. (2010). Qu'est-ce que le lait ?, *Revue française d'allergologie.* 50 : 124–127.
206. Vimahieu. (2005). *Composition du lait*. Edition Université libre de Bruxelles.
207. Vignola, C. (2002). *Science et Technologie du Lait Transformation du Lait*. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.
208. Von Wright, A., and Salminen, S., (1998). In: Salminen, S. von Wright, A. (Eds.). *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*, Marcel Dekker, New York.

## W

209. Walsh, C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*; 406: 775-81.
210. Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., Wehrmüller, k., (2008). Cheese in nutrition and health – review. *Dairy sci. Technol.* 88: 389-405
211. Wilke, M.S., Lovering, A.L., and Strynadka, N.C., (2005). Beta-lactam antibiotic resistance: acurrent structural perspective. *Curr Opin Microbiol.* 8: 525-533.
212. Wolfgang, M *et al.* (1999).The comp locus of *Neisseria gonorrhoeae* encodes a type IV prepilin that is dispensable for pilus biogenesis but essential for natural transformation. *Molecular Microbiology.* 31, 1345-1357.
213. Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., and Smit, G., (2002). Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. Dairy J.* 12: 91–109.

## Web graphie

1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2806661/>
2. <http://chhiwatsihame.over-blog.com/>
3. [http://www.biopix.dk/artiskok-cynara-scolymus\\_photo-27465.aspx](http://www.biopix.dk/artiskok-cynara-scolymus_photo-27465.aspx)
4. [http://www.floradecanarias.com/cynara\\_cardunculus.html](http://www.floradecanarias.com/cynara_cardunculus.html)
5. [https://doc.rero.ch/record/4188/files/1\\_these\\_MirabaudMI](https://doc.rero.ch/record/4188/files/1_these_MirabaudMI)
6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2806661/>
7. <http://site.iugaza.edu.ps/mlaqqan/files/2012/04/Api20E1.pdf>

# **A**nnexes

---

# Annexe I

## I. Milieux de culture

### I.1. Milieux de base

#### ▪ Gélose nutritif

Macération de viande .....	1L
(eau distillée + extrait de viande)	
Peptone trypsine .....	15g
NaCl ou KCl.....	05g
Agar .....	15 à 20 g
PH final 7,2 – 7,4	
Autoclavage à 115°C pendant 20min.	

#### ▪ Gélose VRBG

Extrait de levure .....	3,0
Peptone.....	7,0
Chlorure de sodium.....	5,0
Sels biliaires .....	1,5
Glucose.....	10,0
Rouge neutre.....	0,03
Cristal violet .....	0,002
Agar .....	12,0
pH 7,4 ± 0,2	

## Annexe I

### ▪ Gélose Mac Conckey

Peptone de caséine.....	17
Peptone de viande.....	3
Sels biliaires.....	1,5
Cristal violet.....	0,0075
Lactose.....	10
Rouge neutre.....	0,03
NaCl.....	5
Agar.....	12

pH final = 7,4±0,2

### ▪ Trypton sel

Peptone de caséine.....	10g /l
Chlorure de sodum.....	5g /l

pH final = 7,5±0,2

### ▪ Eau physiologique

Chlorure .....	09g
Eau distillée.....	1000 ml

pH= 7

## I.4. Milieux utilisé pour l'étude de sensibilité des bactéries aux ATB

### ▪ Mueller-Hinton (MH)

viande de bœuf .....	300.0g/l
Hydrolysate de caséine.....	17.5 g/l
Amidon.....	1.5 g/l
Gélose.....	17.0 g/l

pH final 7,4

Stériliser à 121°C pendant 15min.

## Annexe I

### II. colorants et autres

- **Violet de gentiane au cristal**

Violet de gentiane .....	10g(ou5g)
Phénol .....	20g
Ethanol à 0.95 .....	100 cm <sup>3</sup>
Eau distillée .....	01 dm <sup>3</sup>

- **Lugol**

Iode .....	05g
Iodure de potassium .....	10g
Eau distillée .....	01g
Flacon brun	

- **Fuchsine de Ziehl**

Fuchsine basique .....	10g
Phénol .....	50g
Ethanol à 0.5.....	10cm <sup>3</sup>
Eau distillée .....	1dm <sup>3</sup>

## Annexe II

**Tableau (01) :** Les éléments de la description des colonies

Aspect	Description
<b>La taille</b>	Mesure à l'aide d'une règle gradué pour les grandes colonies.
<b>La forme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Vue en coupe : bombé, plate, ombiliquée, à centre surélevé.</li> <li>➤ Vue par-dessus : ronde, à bords dentelés, en étoile.</li> </ul>
<b>La surface</b>	Lisse, rugueux, renvoyer la lumière de façon à donner aux colonies un reflet métallique ou un aspect irisé.
<b>L'opacité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Opaques: ne laissent pas passer la lumière;</li> <li>➤ translucides: laissent passer la lumière mais on ne voit pas la forme au travers;</li> <li>➤ transparentes: laissent passer la lumière et voir les formes au travers.</li> </ul>
<b>Consistance</b>	Les colonies grasses, crémeuses (on obtient facilement des suspensions homogènes), sèches ou muqueuses (on obtient difficilement des suspensions homogènes).
<b>La couleur</b>	Les colonies habituelles sont crèmes. Une couleur rouge

**Tableau (02) :** Identification des isolats entérobactéries

Code	Identification
<b>01</b>	<i>Entérobacter cloacae</i>
<b>02</b>	<i>Klebsiella ornithiolytica</i>
<b>03</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>
<b>04</b>	<i>Kluyvera spp</i>
<b>05</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>
<b>06</b>	<i>Serratia odorifera 1</i>
<b>07</b>	<i>Enterobacter arogenes</i>
<b>08</b>	<i>Enterobacter coloacae</i>
<b>09</b>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<b>10</b>	<i>Kluyvera spp</i>
<b>11</b>	<i>Enterobacter coloacae</i>
<b>12</b>	<i>Klebsiella ornithiolytica</i>
<b>13</b>	<i>Enterobacter coloacae</i>
<b>14</b>	<i>Klebsiella ornithiolytica</i>

## Annexe II

15	<i>Serratia odorifera 1</i>
16	<i>Enterobacter coloacae</i>
17	<i>Entérobacter cloacae</i>
18	<i>Klebsiella ornithiolytica</i>
19	<i>Salmonella arizonae</i>
20	<i>Entérobacter cloacae</i>
21	<i>Entérobacter cloacae</i>
22	<i>Serratia odorifera 1</i>
23	<i>Klebsiella terrigena</i>
24	<i>Serratia liquefaciens</i>
25	<i>Enterobacter sakazakii</i>
26	<i>Serratia odorifera 1</i>
27	<i>Kluyvera spp</i>
28	<i>Enterobacter arogenes</i>
29	<i>Citrobacter braaki</i>
30	<i>Serratia odorifera 1</i>

## Annexe III

**Tableau N°(03) : Le résultat de diamètre critique**

ATB Isolats	AMP	TIC	FOX	CTX	CAZ	IMI	GM	AK	OFX	NA	C	F	TE	SXT
16	0	40	0	20	20	15	D :30 d : 24	D :30 d :23	22	D :20 d : 15	25	0	15	16
17	7	35	12	26	0	30	24	25	30	D :25 d : 10	30	0	17	D :28 d : 13
21	0	0	15	0	0	0	22	25	19	20	25	18	16	25
12	0	D : 30 d : 10	D :25 d :17	30	18	17	17	D :23 d :17	0	24	30	18	22	30
18	0	0	0	D :40 d :30	D :24 d : 16	0	D : 30 d : 20	D :22 d :15	15	20	25	20	D :23 d :14	24
28	14	D : 30 d : 20	0	D :35 d :20	D :29 d : 17	D :20 d :11	D :15 d :10	20	17	24	25	0	12	D :25 d : 17
29	0	D : 22 d : 07	0	D :30 d :10	0	0	20	18	D :28 d :19	18	23	17	11	10
06	0	10	0	10	38	0	22	20	22	20	25	18	22	10
04	0	10	0	35	16	27	17	18	D :30 d :20	20	25	19	24	30
22	8	0	0	11	0	0	13	12	19	13	19	12	19	10
19	0	D :36 d :10	0	D :40 d :30	14	23	25	20	D :34 d :15	22	D :30 d :18	20	10	D :20 d : 15
08	0	19	10	0	0	D :30 d :25	20	21	27	20	13	0	12	12
07	0	30	0	0	10	0	20	18	D :30 d : 20	D :25 d :20	D :22 d :15	18	D :20 d :10	25
13	12	25	0	25	19	25	D :28 d : 2	D :27 d :22	25	20	19	0	17	D :25 d: 17
05	0	15	0	15	16	22	18	18	18	D :20 d :14	D :30 d :23	0	D :20 d : 10	0
02	0	10	0	8	0	20	D :17 d : 13	D :21 d :16	D :25 d :18	D :22 d :17	22	12	17	15

**D** : Diamètre 1

**d** : diamètre 2

## Annexe III

ATB Isolats	AMP	TIC	FOX	CTX	CAZ	IMI	GM	AK	OFX	NA	C	F	TE	SXT
01	15	D :20 d :15	0	D:33 d :25	15	0	20	18	30	15	18	0	D :23 d :15	30
20	10	D:40 d :32	0	30	D :25 d :17	0	20	22	28	D :25 d :10	20	0	D :22 d :14	13
27	7	10	0	0	0	0	D :30 D :22	D :30 d :22	D :26 d :17	17	23	16	18	0
22	0	D :33 d :09	0	30	D :33 d :17	0	18	15	23	20	25	13	D :23 d :15	10
30	0	34	12	32	24	0	20	20	25	18	23	12	12	22
14	10	D :36 d :10	0	D :40 d :30	14	23	25	20	D :34 d :15	22	D :30 d :18	20	10	D :20 d :15
26	16	10	0	24	20	0	D :33 d :22	20	D :30 d :15	14	20	0	D :25 d :10	28
09	0	35	0	30	D :27 d :17		D :30 d :23	D :28 d :22	30	20	D :32 d :25	16	19	D :32 d :22
10	0	10	0	30	19	0	20	20	20	20	26	15	22	D :28 d :18
25	0	D :34 d :20	17	D :30 d :20	18	D :27 d :20	20	D :22 d :11	D :30 d :18	22	24	18	17	25
15	0	18	0	0	0	0	10	D :20 d :10	D :25 d :18	21	25	10	12	0
11	7	20	20	0	0	D :35 d :20	D :25 d :20	D :20 d :7	D :25 d :13	25	25	8	D :22 d :17	0
23	12	10	0	D :35 d :17	25	30	22	19	16	27	28	0	18	29
03	6	7	19	17	0	D :38 d :25	D :25 d :20	D :24 d :09	D :25 d :19	D :23 d :16	0	15	21	0

## Annexe IV

**Tableau N°(05) : Lecture de la galerie miniaturisée Api20E**

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phenyl-galactosidase	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
<b>ADH</b>	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge /Orangé
<b>LDC</b>	L-lysine	Lysine Décarboxylase	Jaune	Orangé
<b>ODC</b>	L-ornitine	Otnithine Décarboxylase	Jaune	Rouge /orangé
<b>CIT</b>	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert Pale /Jaune	Bleu-vert /vert
<b>H2S</b>	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisatre	Dépôt noir/fin lisere
<b>HRE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/Orangé
<b>TDA</b>	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/immédiat	
			Jaune	
<b>IND</b>	L-tryptophane	Production d'indole	James/2mn	
			Jaune	Anneau rouge
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP 1+VP 2/10mn	
			Incolore	Rose -rouge
<b>GEL</b>	Gélatine	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	D-glucose	Fermentation /Oxydation	Bleu /bleu- vert	jaune
<b>MAN</b>	D-mannitol	Fermentation /Oxydation	Bleu /bleu- vert	jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation /Oxydation	Bleu /bleu- vert	jaune
<b>SOR</b>	D-sorbitol	Fermentation /Oxydation	Bleu /bleu- vert	jaune
<b>RHA</b>	L-rhamnose	Fermentation /Oxydation	Bleu /bleu- vert	jaune
<b>SAC</b>	D-saccharose	Fermentation /Oxydation	Bleu /bleu- vert	jaune
<b>MEL</b>	D-melibiose	Fermentation /Oxydation	Bleu /bleu- vert	Jaune

## Annexe IV

<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation /Oxydation	Bleu /bleu- vert	jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose	Fermentation /Oxydation	NIT 1+NIT 2/2-3mn	
			jaune	Rouge
<b>Nitrate réductase Tube GLU</b>	Potassium nitrate	Production de NO <sub>2</sub>	Zinc / 5mn	
		Réduction au stade N <sub>2</sub>	Rouge /orangé	jaune

## Annexe V

### **Coloration de Gram :**

- 1-Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre
- 2-Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène
- 3-Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes
- 4- Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée
- 5- Couvrir de lugol pendant 30 secondes
- 6- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 7- Rincer immédiatement le frottis avec le mélange alcool - acétone en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette
- 8- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 9- Couvrir avec de la fuschine pendant 15 secondes
- 10- Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes
- 11- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement.

Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement au

## Annexe VI

Tableau N°(04) : Diamètre critiques selon SFM (2014)

<b>Antibiotiques</b>	<b>L'abréviation</b>	<b>d</b>	<b>D</b>
<b>Ampicilline</b>	<b>AMP</b>	<b>14</b>	<b>14</b>
<b>Ticarciline</b>	<b>TIC</b>	<b>23</b>	<b>23</b>
<b>Céfoxitine</b>	<b>FOX</b>	<b>19</b>	<b>19</b>
<b>Cefotaxime</b>	<b>CTX</b>	<b>17</b>	<b>20</b>
<b>Cetazidime</b>	<b>CAZ</b>	<b>19</b>	<b>22</b>
<b>Imipénème</b>	<b>IMP</b>	<b>16</b>	<b>22</b>
<b>Gentamicine</b>	<b>GM</b>	<b>14</b>	<b>17</b>
<b>Amikacine</b>	<b>AK</b>	<b>13</b>	<b>16</b>
<b>Ofloxacin</b>	<b>OFX</b>	<b>19</b>	<b>22</b>
<b>Acide nalidixique</b>	<b>NA</b>	<b>14</b>	<b>19</b>
<b>Chloramphénicol</b>	<b>C</b>	<b>17</b>	<b>17</b>
<b>Nitrofuranes</b>	<b>F</b>	<b>15</b>	<b>15</b>
<b>Tétracycline</b>	<b>TE</b>	<b>17</b>	<b>19</b>
<b>Triméthoprime- Sulfanéthoxazol</b>	<b>SXT</b>	<b>13</b>	<b>16</b>

## Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : *Bachi Naoual*

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : *Biologie appliquée*

N° de carte d'étudiant : *2011/4016102*

Année universitaire : *2015/2016*

Domaine : *Sciences de la nature et de la vie*

Filière : *Sciences biologiques*

Spécialité : *Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement*

Intitulé du mémoire : *Etude de la sensibilité aux antibiotiques de souches des entérobactéries isolées du fromage frais artisanal "Tben"*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

### Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : *29/05/2016*

Signature de l'étudiant(e) :

**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : *Necib Takoua*

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : *Biologie appliquée*

N° de carte d'étudiant : *2011/40157511*

Année universitaire : *2015/2016*

Domaine : *Sciences de la nature et de la vie*

Filière : *Sciences biologiques*

Spécialité : *Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement*

Intitulé du mémoire : *Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches des entérocoques isolées du fromage frais artisanal "Tben"*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : *29/05/2016*

Signature de l'étudiant(e) :

*Necib Takoua*