



République algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université de Tébessa

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département : Biologie appliquée.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master.

Domaine : Sciences de la nature et de la vie.

Filière : Sciences biologiques.

Option : Microbiologie appliquée.

## Thème

*Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches  
d'entérobactéries isolées des  
viandes de volaille*

Présenté par :

NECIB Maroua

BRAI Souad

Devant le jury :

Benlakhla.A

MAA

Université de Tébessa

Président

Debabza.M

MCA

Université de Tébessa

Rapporteuse

Menasria.T

MAA

Université de Tébessa

Examineur

Date de soutenance : 16 Juin 2019

## ملخص

تشكل مقاومة البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية مشكلة ذات أهمية متزايدة في العالم، ذلك بسبب أنها في تطور مستمر، وهو ما يعد تهديدا حقيقيا للصحة العامة. كذلك، انتشارها في لحوم الدواجن يجعل منها موضوعا يدعو للقلق بالنسبة للقطاع الاقتصادي.

إذن، هذه الدراسة كانت تهدف إلى تقييم مستويات المقاومة لدى البكتيريا المعوية المعزولة من لحوم الدواجن (شرائح الديك الرومي) المسوقة في ولاية تبسة.

في هذا السياق، انطلاقا من 13 عينة، تمكنا من عزل 35 عزلة من البكتيريا المعوية، المنتمية إلى الأجناس:

*Escherichia* (42.86%)، *Citrobacter* (17.14%)، *Raoultella*، *Serratia* و *Enterobacter* (11.43%)

لكل منها) و *Salmonella* (5.71%) مع هيمنة الإشريكييات القولونية، أي الجراثيم المؤشرة للنظافة.

كشفت نتائج اختبار مقاومة البكتيريا المجرى وفق الطريقة القياسية عن مستويات عالية عموما من المقاومة لمجموعة عزلاتنا، لأغلب المضادات الحيوية المختبرة: أموكسيسيلين (90.91%)، سيفالوكسين و سيفتازيديم (87.88% لكل منهما)، تيكارسيلين وأزترينام (78.79%)، بيبيراسيلين وأوفلوكساسين (75.76%)، تيكارسيلين/حمض الكلافولانيك و كوتريموكساسول (69.70%)، سيفوتاكسيم (66.67%)، سيبروفلوكساسين (63.64%)، سيفوكسيتين (60.61%). بالمقابل، أظهرت العزلات مستويات متدنية من المقاومة للأمينوغليكوزيدات، بينما حافظ الإيميبينيم على فعاليته المثالية. أيضا سجلنا نسبة مرتفعة (63.64%) من العزلات متعددة المقاومة.

تشير دراستنا إلى أن لحوم الديك الرومي المسوقة في ولاية تبسة تأوي بكتيريا معوية مقاومة للمضادات الحيوية بمعدلات عالية. ومنه هذه المادة الغذائية يمكن أن تكون مصدر مشاكل صحية مختلفة ذات شدة متفاوتة، حيث تستطيع هذه البكتيريا المقاومة تخطي أغلب العلاجات المضادة حيويًا الشائعة الإستعمال.

لذلك فإن الرقابة الصارمة بخصوص استعمال هذه المضادات الحيوية في قطاع لحوم الديك الرومي أمر ضروري، تفاديا لانتقاء السلالات المقاومة وانتشارها على طول السلسلة الغذائية.

**الكلمات المفتاحية:** لحوم الدواجن، شرائح الديك الرومي، بكتيريا معوية، المقاومة للمضادات الحيوية.

## Abstract

The antibiotic resistance of *Enterobacteriaceae* is a problem of increasing importance worldwide, because it is in perpetual evolution, which constitutes a real threat of major public health. Furthermore, their abundance in poultry meat makes them a topic of concern also for the economic sector.

The aim of this study was to evaluate the resistance rates of enterobacteria isolated from poultry meat (turkey escalope) marketed in Tebessa.

In this context, from 13 samples, we could isolate 35 isolates of *Enterobacteriaceae* belonging to the genera : *Escherichia* (42.86%), *Citrobacter* (17.14%), *Raoultella*, *Serratia* and *Enterobacter* (11.43% for each of them) and *Salmonella* (5.71%), with a predominance of *E.coli*, the germs indicating hygiene.

The antibiogram results, carried out according to the standard method, have generally revealed high resistance levels in our isolates collection, against most antibiotics tested : Amoxicillin (90.91%), Cephalexin and Ceftazidime (87.88% for each of them), Ticarcillin and Aztreonam (78.79%), Piperacillin and Ofloxacin (75.76%), Ticarcillin/Clavulanic acid and co-Trimoxazole (69.70%) , Cefotaxime (66.67%), Ciprofloxacin (63.64%) and Cefoxitin (60.61%). However, the isolates showed low levels of resistance to aminoglycosides, while the Imipenem has maintained its perfect efficiency. In addition, a high rate (63.64%) of multidrug-resistant isolates was noted.

Our study shows that turkey meat marketed in Tebessa harbors antibiotic-resistant enterobacteria at high rates. Therefore, this food, can be at the origin of various health problems of varying severity, where these resistant bacteria can escape most common antibiotic treatments.

A strict control of the use of antibiotics in the turkey meat sector is therefore required, to prevent the selection of resistant strains and their spread along the food chain.

**Key words :** Poultry meat, turkey escalope, Enterobacteria, antibiotic resistance.

## Résumé

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques est un problème d'importance croissante à l'échelle mondiale, du fait qu'elle est en perpétuelle évolution, ce qui constitue une menace réelle de santé publique majeure. Par ailleurs, leur abondance dans les viandes de volaille les fait un sujet de préoccupation également pour le secteur économique.

Cette étude avait pour objectif d'évaluer les taux de résistance des entérobactéries isolées des viandes de volaille (escalopes de dinde) commercialisées à Tébessa.

Dans ce contexte, à partir de 13 échantillons, on a pu isoler 35 isolats d'entérobactéries appartenant aux genres : *Escherichia* (42.86 %), *Citrobacter* (17.14 %), *Raoultella*, *Serratia* et *Enterobacter* (11.43 % pour chacun) et *Salmonella* (5.71 %), avec une prédominance des *Escherichia coli*, les germes indicateurs d'hygiène.

Les résultats de l'antibiogramme, réalisé selon la méthode standard, ont généralement révélé des taux de résistance élevés de notre collection de isolats, vis-à-vis la plupart des antibiotiques testés : Amoxicilline (90.91 %), Céfalexine et Ceftazidime (87.88 % pour chacun), Ticarcilline et Aztréonam (78.79 %), Pipéracilline et Ofloxacine (75.76 %), Ticarcilline/Acide clavulanique et co-Trimoxazole (69.70 %), Céfotaxime (66.67 %), Ciprofloxacine (63.64 %) et Céfoxitine (60.61 %). Néanmoins, les isolats ont montré des taux faibles de résistance aux aminosides, alors que l'Imipénème a maintenu son efficacité parfaite. De plus, on a marqué un taux élevé (63.64%) des isolats multi résistants.

Notre étude montre que la viande de dinde commercialisée à Tébessa héberge des entérobactéries résistantes aux antibiotiques à des taux élevés. De ce fait, cette denrée alimentaire, pourrait être à l'origine de différents problèmes sanitaires plus ou moins graves, où ces bactéries résistantes peuvent s'échapper à la plupart de traitements antibiotiques courants.

Un contrôle rigoureux de l'utilisation des antibiotiques en filières dindes de chair est donc requis, afin de prévenir la sélection des souches résistantes et leur propagation le long de la chaîne alimentaire.

**Mots clés :** Viandes de volaille, escalope de dinde, Entérobactéries, résistance aux antibiotiques.



## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail,*

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A mes frères et sœurs, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*

*A mon binôme et ma chère grande sœur Souad.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

*Maroua*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire,*

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A mon cher époux pour son soutien quotidien indéfectible et son enthousiasme contagieux à l'égard de mes travaux comme de la vie en général.*

*A mon oncle braï Mohamed pour leurs encouragements et leurs soutiens.*

*A mes chers frères : Madjid, Muloud, Sami, Billal et Abdenour, pour leur appui et leur encouragement.*

*A ma chère sœur Sara pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mes petits-enfants Ahmed abd el djalil et Kaouther .*

*A mon binôme qui a veillé que ce travail soit à la hauteur : Maroua.*

*A toutes mes amies Nesrine, Latifa, Souma, Loubna ,*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

*Souad*

## *Remerciements*

*Nous remercions le bon Dieu tout puissant qui nous a honoré par ce savoir, en nous portant aide pour achever ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et nos très profondes gratitudees à notre encadreur Dr. Debabza Manel d'avoir accepté de nous diriger pour réaliser ce mémoire, et qui nous a consacré beaucoup de ses efforts,*

*merci infiniment pour votre disponibilité toujours à nos côtés ; pour vos conseils et votre gentillesse.*

*Nous adressons aussi nos remerciements aux membres de jury d'avoir accepté de jurer ce mémoire.*

*Par ailleurs, nous exprimons nos remerciements particuliers à Madame Moufida, responsable des laboratoires, qui nous a montré une amabilité et une forte compréhensibilité dans l'esprit de faire de notre formation pratique un bon souvenir et une agréable expérience.*

*Un grand merci à Warda, la technicienne du laboratoire, et Amel, la doctorante, qui nous ont accompagné tout au long de cette période, avec beaucoup de patience et de sincérité.*

*Que nos collègues et amis nombreux pour les citer, trouvent ici l'expression de nos remerciements pour leur aide et encouragements lors de la réalisation de ce mémoire.*

*Sans oublier de remercier nos familles qui contribuent à l'avancement de toute belle chose dans nos vies et qui nous ont beaucoup soutenu.*

# Table des matières

ملخص

Abstract

Résumé

Dédicaces

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des planches

Liste des symboles

Introduction

Partie 01 : Synthèse bibliographique

## Chapitre I : Entérobactéries

1. Définition.....	01
2. Classification.....	01
3. Ecologie et mode de vie.....	01
4. Caractères bactériologiques.....	02
4.1. Morphologie.....	02
4.2. Caractères immunologiques.....	02
4.3. Caractères cultureux.....	03
4.4. Caractères biochimiques.....	03
5. Principaux genres.....	03
5.1. <i>Escherichia</i> .....	03
5.2. <i>Salmonella</i> .....	04
5.3. <i>Shigella</i> .....	05
5.4. <i>Klebsiella</i> .....	06
5.5. <i>Proteus</i> .....	06
5.6. <i>Citrobacter</i> .....	07
5.7. <i>Serratia</i> .....	07
5.8. <i>Yersinia</i> .....	07
5.9. <i>Enterobacter</i> .....	08
6. Pouvoir pathogène.....	08

6.1. Pathogènes opportunistes.....	09
6.2. Pathogènes spécifiques.....	09

## **Chapitre II : Résistance aux antibiotiques**

1. Définition des antibiotiques.....	10
2. Mode d'action des antibiotiques.....	10
3. Principales familles d'antibiotiques et mécanismes d'action.....	10
3.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane.....	10
3.1.1. Antibiotiques à noyau bêta-lactame ou bêta-lactamines.....	10
3.1.2. Glycopeptides.....	11
3.1.3. Fosfomycines.....	12
3.2. Antibiotiques actifs sur la membrane bactérienne.....	13
3.3. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique.....	13
3.3.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome.....	13
3.3.1.1. Aminosides (ou aminoglycosides).....	13
3.3.1.2. Tétracyclines.....	14
3.3.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome.....	14
3.3.2.1. Chloramphénicol.....	14
3.3.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines.....	14
3.3.2.3. Autres aminosides.....	14
3.3.3. Antibiotiques inhibant le facteur d'élongation G.....	15
3.4. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques.....	15
3.4.1. Quinolones.....	15
3.4.2. Nitro-imidazole.....	16
3.4.3. Nitrofuranes.....	16
3.4.4. Sulfamides et triméthoprime.....	16
3.4.5. Rifamycines.....	16
4. Résistance aux antibiotiques.....	17
4.1. Définition.....	17

4.2. Différents types.....	17
4.2.1. Résistance naturelle.....	17
4.2.2. Résistance acquise.....	18
4.3. Mécanismes de résistance.....	18
4.3.1. Absence de pénétration.....	18
4.3.2. Modification de la cible.....	19
4.3.3. Production d'enzymes.....	20
4.3.4. Changement de voie métabolique.....	20
4.3.5. Mécanisme d'efflux.....	20
4.3.6. Persistance des bactéries.....	20
4.3.7. La réponse SOS bactérienne.....	21
4.3.8. Développement de biofilms.....	21

### **Chapitre III : Viandes de volaille**

1. Définition.....	22
2. Structure et composition.....	22
3. Microbiologie des viandes de volaille.....	23
3.1. Flore caractéristique.....	24
3.2. Mode d'altération du produit et leurs conséquences technologiques, organoleptiques et commerciales.....	24

### **Partie 02 : Matériel et méthodes**

1. Objectif et lieu de l'étude.....	26
2. Méthodologie.....	26
2.1. Prélèvement.....	26
2.2. Pré-enrichissement.....	27
2.3. Inoculum pour isolement des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération.....	28
2.4. Recherche des <i>Salmonella</i> .....	29
2.5. Examens macroscopique et microscopiques.....	29
2.6. Purification.....	30
2.7. Conservation.....	30

2.8. Identification des isolats.....	30
2.8.1. Principe et description de la galerie API 20E.....	30
2.8.2. Technique.....	31
2.9. Antibiogramme.....	33
2.9.1. Définition.....	33
2.9.2. Principe.....	33
2.9.3. Technique.....	33

### **Partie 03 : Résultats et discussion**

1. Examen macroscopique.....	37
2. Examen microscopique.....	38
3. Identification biochimique.....	39
4. Répartition des souches d'entérobactéries identifiées.....	45
5. Résistance aux antibiotiques.....	51
5.1. Résultats de l'antibiogramme.....	51
5.2. Taux des souches résistantes, sensibles et intermédiaires.....	54
5.3. Taux de résistance selon l'espèce.....	56
5.4. Souches multirésistantes.....	61
5.5. Profils d'antibiorésistance des souches testées.....	62

### **Conclusion générale**

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Informations relatives aux échantillons prélevés durant l'étude	<b>27</b>
<b>02</b>	Liste des antibiotiques testés	<b>36</b>
<b>03</b>	Description des colonies obtenues sur les différents milieux de culture utilisés	<b>37</b>
<b>04</b>	Résultats de l'identification biochimique par l'API 20 <sup>E</sup>	<b>40</b>
<b>05</b>	Pourcentages des souches selon le genre.	<b>46</b>
<b>06</b>	Pourcentages des souches selon l'espèce.	<b>47</b>
<b>07</b>	Résultats de l'antibiogramme des souches d'entérobactéries identifiées	<b>52</b>
<b>08</b>	Pourcentages des souches résistantes	<b>55</b>
<b>09</b>	Pourcentages des souches résistantes selon l'espèce	<b>57</b>
<b>10</b>	Profils d'antibiorésistance des souches d'entérobactéries testées	<b>62</b>

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>01</b>	Localisation des antigènes H, O et K dans une entérobactérie	<b>01</b>
<b>02</b>	Le peptidoglycane bactérien : structure et synthèse ; action de bêta-lactamines	<b>11</b>
<b>03</b>	Action des glycopeptides sur le peptidoglycane bactérien	<b>12</b>
<b>04</b>	Action de la fosfomycine	<b>12</b>
<b>05</b>	Mécanisme d'action des aminosides	<b>15</b>
<b>06</b>	Action des quinolones	<b>16</b>
<b>07</b>	Mode d'action des sulfamides, triméthoprime et rifampicine	<b>17</b>
<b>08</b>	Principales stratégies bactériennes de la résistance aux antibiotiques	<b>19</b>
<b>09</b>	Un échantillon d'escalope de dinde prélevé dans des conditions aseptiques	<b>26</b>
<b>10</b>	La galerie API 20E avec son couvercle et son fond	<b>31</b>
<b>11</b>	Schéma représentatif de la disposition et de l'ordre de dépôt des antibiotiques utilisés	<b>35</b>
<b>12</b>	Principaux aspects culturels sur gélose MC	<b>37</b>
<b>13</b>	Principaux aspects macroscopiques sur gélose SS	<b>38</b>
<b>14</b>	Aspect culturel sur gélose de sulfite de Bismuth	<b>38</b>
<b>15</b>	Quelques aspects microscopiques observés après coloration de Gram	<b>39</b>
<b>16</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 03 ( <i>Serratia liquefaciens</i> ).	<b>44</b>
<b>17</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 04 ( <i>Serratia odorifera</i> ).	<b>44</b>
<b>18</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 10 ( <i>Salmonella enterica subsp. arizonae</i> )	<b>44</b>
<b>19</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 21 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )	<b>44</b>
<b>20</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 22 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )	<b>44</b>
<b>21</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 23 ( <i>E.coli</i> 1)	<b>44</b>
<b>22</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 28 ( <i>Raoultella ornithinolytica</i> )	<b>45</b>
<b>23</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 30 ( <i>Citrobacter freundii</i> )	<b>45</b>
<b>24</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 31 ( <i>Citrobacter braakii</i> )	<b>45</b>
<b>25</b>	API 20 <sup>E</sup> de la souche 33 ( <i>Salmonella</i> spp)	<b>45</b>

## Liste des figures (suite)

<b>26</b>	Répartition des souches en fonction du genre	<b>46</b>
<b>27</b>	Répartition des souches en fonction de l'espèce	<b>48</b>
<b>28</b>	Antibiogramme de la souche E05S06 « <i>Serratia odorifera</i> »	<b>43</b>
<b>29</b>	Antibiogramme de la souche E02S01 « <i>Citrobacter freundii</i> »	<b>53</b>
<b>30</b>	Antibiogramme de la souche E12S26 « <i>E.coli 1</i> »	<b>54</b>
<b>31</b>	Antibiogramme de la souche E13S27 « <i>Enterobacter cloacae</i> »	<b>54</b>
<b>32</b>	Sensibilité aux antibiotiques des souches isolées	<b>56</b>

## Liste des planches

N°	Titre	Page
<b>01</b>	Étapes de préparation de la suspension du pré-enrichissement	<b>28</b>

## Liste des abréviations

**°C**: Degré Celsius.

**µm** : Micro mètre.

**µl** : Micro litre.

**β** : Bêta.

**ADH** : Arginine dihydrolase.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AK** : Amikacine.

**AMX** : Amoxicilline.

**AMY** : Amygdaline.

**API 20E** : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries).

**ARA** : Arabinose.

**ARN** : Acide ribonucléique.

**ARNm** : ARN messenger.

**ARNr** : ARN ribosomal.

**ARNt** : ARN de transfert.

**ATB** : Antibiotiques

**ATM** : Aztréonam.

**BGN** : Bacilles à Gram négatif.

**BLSE** : Bêta-lactamase à spectre étendu.

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

**CAZ** : Ceftazidime.

**C1G** : Céphalosporines de première génération.

**C2G** : Céphalosporines de seconde génération.

**C3G** : Céphalosporines de troisième génération.

**CIP** : Ciprofloxacine.

**CIT** : Citrate.

**CL**: Céfalexine.

**COT** : Co-trimoxazole.

**CTX** : Céfotaxime.

**CX** : Céfoxitine.  
**D** : Diamètre 1.  
**d** : Diamètre 2.  
**D-ala** : D-alanine.  
**Dr.** : Docteur.  
**ECDC** : European center for disease prevention and control.  
**EFSA** : European food safety authority.  
**g** : Gramme.  
**GEL** : Gélatinase.  
**GEN**: Gentamicine.  
**GLU** : Glucose.  
**GN**: Gélose nutritive.  
**Gram +** : Gram positif  
**Gram -** : Gram négatif  
**h** : heure.  
**H<sub>2</sub>S** : hydrogène sulfuré.  
**I** : Intermédiaire  
**IND** : Indole.  
**INO** : Inositol.  
**IPM** : Imipénème.  
**LDC** : Lysine décarboxylase.  
**LPS** : Lipopolysaccharide.  
**MAN** : Mannitol.  
**MC**: Mac Conkey.  
**MEL** : Melibiose.  
**mg** : milligramme.  
**MH** : Mueller-Hinton.  
**ml** : millilitre.  
**mm** : millimètre.  
**NIT**: Nitrate réductase.  
**NO<sub>2</sub>** : Dioxyde d'azote.  
**NR** : Nitrate réductase.  
**ODC**: Ornithine décarboxylase.  
**ONPG** : Orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside.

**PLP** : Protéines liant les pénicillines.

**PRL** : Pipéracilline.

**R**: Résistante.

**RHA**: Rhamnose.

**S** : Sensible.

**SAC**: saccharose.

**SFB** : Selenite F Both.

**SOR**: sorbitol.

**SS** : *Salmonella Shigella*.

**spp.** : Espèce

**subsp.** : Sous-espèce.

**TC** : Ticarcilline.

**TET** : Tetracycline resistance Protein.

**TTC** : Ticarcilline+Acide cluavlanique.

**TDA** : Tryptophane désaminase.

**URE**: Uréase.

**VP**: Voges-Proskauer.

**Zn**: Zinc.

# Introduction

## Introduction

Les médicaments antimicrobiens sont parmi les exemples les plus spectaculaires des avancées de la médecine moderne (**Katzung, 2006**). En effet, l'antibiothérapie et ses progrès semblaient avoir résolu la quasi-totalité des problèmes courants en pathologie infectieuse (**Ndiaye, 2005**). Une conséquence inévitable de l'usage des antibiotiques est la sélection de micro-organismes résistants (**Katzung, 2006**), qui ne cessent de développer différentes stratégies de résistance depuis les débuts de l'utilisation de ces molécules (**Alix, 2015**). Ce phénomène apparu depuis la fin de la Seconde Guerre mondiale comme une évolution inéluctable peut être constitutif du germe ou acquis au cours de son développement (**Meyer et al., 2004**).

Un accroissement massif de la prévalence de germes pathogènes multi-résistants est ainsi alimenté par l'utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques (**Katzung, 2006**), aussi bien en médecine humaine, qu'en médecine vétérinaire ou dans l'alimentation animale (**Lagha, 2015**), ce qui pose le problème de choix de l'antibiothérapie (**Cécile et al., 2015**) et d'où l'inquiétude de se retrouver un jour désarmé pour combattre une infection.

En effet, les infections très fréquentes, causées par les bactéries à Gram négatif, constituent actuellement une menace sérieuse de santé publique à l'échelle mondiale, parce qu'elles sont difficiles à traiter et sont associées à des taux élevés de morbidité et de mortalité. La situation est d'autant plus alarmante pour les entérobactéries. Ces dernières sont caractérisées par une prolifération continue de leur résistance (**Khennouchi, 2016**) due notamment à l'acquisition de gènes de résistance favorisée surtout par leur concentration importante dans le tube digestif. Elles sont douées de mécanismes puissants, dont l'inactivation enzymatique avec sécrétion d'enzymes telles que les bêta-lactamases, est le plus important, ainsi que d'autres mécanismes de résistance à de nombreux autres antibiotiques (**Cécile et al., 2015**).

Les entérobactéries peuvent être responsables de plusieurs pathologies, parmi lesquelles, les infections digestives liées surtout à la consommation de denrées alimentaires d'origine animale, dont la viande est la plus fortement impliquée, du fait de sa richesse en eau et en protéines de haute valeur biologique, formant ainsi une niche très favorable au développement des microorganismes (**Benaissa, 2011**). La volaille plus précisément, constitue une denrée alimentaire problématique au cours de ces dernières années en Algérie, en raison de la concentration des abattages et de le non respect des mesures de programmes de biosécurité imposées par l'industrie de la volaille (**Alloui, 2014**).

Note étude réalisée dans ce cadre, consiste à isoler des entérobactéries à partir des viandes de volailles commercialisées à Tébessa, et d'évaluer leur résistance vis à vis des antibiotiques comme objectif global.

Ce manuscrit s'échelonne sur trois parties principales, la première aborde une synthèse bibliographique à propos des entérobactéries, des antibiotiques et de la viande de volaille. La deuxième concerne le matériel utilisé et les méthodes suivies dans les différentes étapes de prélèvement, isolement, identification et antibiogramme. La troisième partie rapportera les résultats obtenus avec leurs interprétations suivis de discussions qui les associent. Enfin, nous clôturerons notre travail par une conclusion générale et des perspectives.

Partie 01

**Synthèse bibliographique**

# Chapitre I

# Entérobactéries

Le pouvoir pathogène des entérobactéries a évolué depuis plusieurs décennies, en particulier dans le domaine humain. Les infections dont elles sont responsables sont devenues plus variées dans leurs localisations et leurs manifestations. Elles jouent maintenant un rôle majeur dans les infections nosocomiales et dans les pathologies infectieuses opportunistes. Leur pouvoir d'adaptation, et notamment leur multi résistance aux antibiotiques, explique la grande variété des espèces et les multiples circonstances dans lesquelles elles sont isolées.

L'importance médicale et économique des entérobactéries, ainsi que leur grand intérêt comme "matériel" de recherche, font de ce groupe bactérien l'un des mieux connus et des plus étudiés (**Joly et Renaud, 2003**).

## 1. Définition

La famille des entérobactéries regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes normaux (commensaux) de l'intestin de l'homme et des animaux (**Berdell et al., 2012**) et d'autres sont des hôtes pathologiques (**Laving et al., 2007**). Dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10% de la flore intestinale aéro-anaérobie (**Berdell et al., 2012**).

## 2. Classification

Les entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARN 5S et 16S dans :

- Domaine : *Eubacteria* ;
- Phylum XII : *Proteobacteria* ;
- Classe III : *Gammaproteobacteria* ;
- Ordre XIII : *Enterobacteriales* ;
- Famille I : *Enterobacteriaceae* (**Larpent, 2000**).

## 3. Ecologie et mode de vie

Les entérobactéries sont très répandues dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par l'intermédiaire des matières fécales animales et des eaux d'égout, et en raison de leur rusticité. Ce sont des contaminants alimentaires très fréquents ; ces bactéries sont capables de se développer abondamment dans un produit alimentaire et donc peuvent être responsables de dégradations importantes (**Berdell et al., 2012**).

Certaines sont responsables d'infections humaines parfois sévères (fièvre typhoïde, dysenterie bacillaire, peste). D'autres entérobactéries prolifèrent en abondance dans l'environnement (sol, eaux). Elles participent aux grands cycles de dégradation des matières organiques où sont étroitement associées aux plantes chez lesquelles elles peuvent déterminer des altérations nuisibles dans le domaine agro-alimentaire (nécroses, dégénérescence ou ramollissement tissulaire, pourriture molle, etc.) ([www.microbes-edu.org](http://www.microbes-edu.org)).

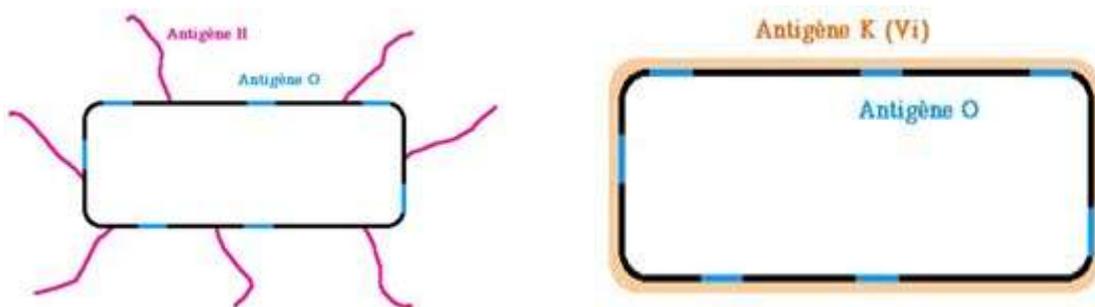
## 4. Caractères bactériologiques

### 4.1. Morphologie

Les entérobactéries ont une morphologie de type bacilles ou coccobacilles asporulés à Gram négatif de 2-4 µm sur 0,4-0,6 µm, mobiles (la mobilité dépend alors d'une ciliation péritriche) ou immobiles (*Klebsiella*), quelquefois capsulés (*Klebsiella*) (**Berdell et al., 2012**) ([www.microbes-edu.org](http://www.microbes-edu.org)).

### 4.2. Caractères immunologiques

Les principaux antigènes des entérobactéries appartiennent à divers groupes : antigènes somatiques O, antigènes flagellaires H, antigènes de surface (ou capsulaires) K, Vi ou R (**Berdell et al., 2012**).



**Figure 01 :** Localisation des antigènes H, O et K dans une entérobactérie ([www.microbes-edu.org](http://www.microbes-edu.org)).

## 4.3. Caractères cultureux

Les entérobactéries se multiplient facilement sur milieu ordinaire à pH neutre à une température de 37°C. Elles donnent des colonies apigmentées (sauf *Serratia*), lisses ou rugueuses de 1 à 3 mm de diamètre (**Berdell et al., 2012**).

On peut obtenir les formes suivantes :

- Les formes S (smooth) sont l'aspect habituel au sortir de l'organisme. Les colonies sont lisses bombées, brillantes et humides.
- Les formes R (rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contour irrégulier et de teinte mate. Elles sont habituellement observées avec les *Klebsiella*. Elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres entérobactéries notamment *Salmonella Paratyphi* B. En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.
- Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques  
(<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>).

## 4.4. Caractères biochimiques

Les entérobactéries sont oxydase -, catalase + (sauf *Shigella dysenteriae* serovar 1), elles réduisent les nitrates en nitrites (sauf quelques *Erwinia*) et fermentent le glucose ; elles sont anaérobies facultatives. L'espèce type est *Escherichia coli* (**Berdell et al., 2012**).

## 5. Principaux genres

La famille des *Enterobacteriaceae* regroupe différents genres, dont les principaux sont développés en ce qui suit.

### 5.1. *Escherichia*

Le genre *Escherichia* fait partie du groupe des coliformes thermotolérants, lequel appartient à la famille des entérobactéries (**Ghafir et Daube, 2007**).

Ce genre compte 5 espèces : *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* et *E. blattae* (Alpha, 2013).

*Escherichia coli* est l'un des résidents les plus communs de l'intestin des humains (Berdell *et al.*, 2012). Il s'agit de courts bâtonnets mobiles au moyen de flagelles péritriches. Ils sont capables de fermenter plusieurs sucres, mais leur fermentation du lactose avec production de gaz est caractéristique. La multiplication à 44°C, la production d'indole et la présence d'une activité  $\beta$ -glucuronidase sont également caractéristiques.

Les *E. coli* sont sérotypées en se basant sur leurs 173 antigènes somatiques (O), 56 antigènes flagellaires (H) et 80 antigènes capsulaires (K). Étant l'espèce bactérienne anaérobie facultative prédominante dans l'intestin et les fèces, la présence d'*E. coli* dans les aliments et l'eau est considérée comme une indication de contamination fécale et, dès lors, l'indication d'une possible présence de microorganismes pathogènes d'origine fécale (Ghafir et Daube, 2007). Les souches considérées comme indicatrices sont non pathogènes. *E. coli* est d'origine fécale humaine ou animale, car il n'existe pas dans l'environnement naturel ; il peut cependant survivre quelques mois dans l'eau, le sol ou sur les plantes, bien qu'il se multiplie rarement dans ces milieux (Chevalier, 2017).

Bien que ce micro-organisme ne soit habituellement pas un agent pathogène, il cause parfois des infections des voies urinaires ; certaines souches produisent des entérotoxines responsables de la turista (diarrhée des voyageurs), et provoquent occasionnellement des très graves maladies d'origine alimentaire telles que la maladie du hamburger (Berdell *et al.*, 2012).

### 5.2. *Salmonella*

Le genre *Salmonella* doit son nom au Dr. vétérinaire Salmon, bactériologiste américain du 19<sup>ème</sup> siècle (Korsak *et al.*, 2004).

*Salmonella* est un bacille proche d'*Escherichia coli*, dont la mobilité propre est assurée par des flagelles péritriches (à l'exception de *S. Gallinarum* qui n'en possède pas). Ces bâtonnets de 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long sont des bactéries mésophiles, peu exigeantes d'un point de vue nutritionnel. Le large spectre de températures (-20 à 60°C) et de pH (4,1 à 9) auxquels elles sont capables de survivre, en fait des bactéries extrêmement résistantes aux conditions environnementales même difficiles (congélation) et expliquent leur caractère ubiquiste (Julie, 2009).

Il fut proposé que le genre *Salmonella* soit divisé en deux espèces distinctes : *S.enterica* et *S.bongori*. La première espèce est elle-même subdivisée en 6 sous espèces dont les plus importantes sont *Salmonella enterica* sbsp. *arizonae* et *Salmonella enterica* subsp. *salamae* (Korsak et al., 2004).

Presque toutes les espèces du genre *Salmonella* sont potentiellement pathogènes. On trouve fréquemment ces bactéries dans l'intestin de nombreux animaux, et en particulier de la volaille et du bétail lorsque les conditions d'hygiène sont médiocres, il y a un risque de contamination des aliments et, par conséquent, des humains.

La fièvre typhoïde, due à *Salmonella Typhi*, est la maladie la plus grave. La salmonellose est une maladie gastro-intestinale moins grave, due à d'autres salmonelles. C'est l'une des formes les plus fréquentes des maladies d'origine alimentaire (Berdell et al., 2012)..

### 5.3. *Shigella*

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 classées en 4 espèces elles-mêmes divisés en sérotypes selon leurs caractères antigéniques :

- **Groupe A** : *S.dysenteriae*

Il en existe 10 sérotypes différents, dont le type 1 s'appelle le bacille de Shiga. Celui-ci produit aussi une exotoxine protéique qui provoque des troubles paralytiques chez les sujets atteints.

- **Groupe B** : *S.flexneri*

Il en existe 6 sérotypes qui sont responsables de 20 % des shigelloses.

- **Groupe C** : *S. boydii*

Il en existe 15 sérotypes qui sont très répandus en Afrique.

- **Groupe D** : *S.sonnei*

Il existe un seul type, responsable de 80 % des shigelloses

(<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>).

## 5.4. *Klebsiella*

Les *Klebsiella* sont des gros bacilles toujours immobiles, de dimensions comparables à celles d'*Escherichia coli*, assez grands (de 0,6 à 6,0 µm de longueur) se présentant de manière isolée, ou groupés par deux ou en courtes chaînes (**Beaudoux, 2009**), très souvent encapsulés ; cette capsule est de nature polysaccharidique (**Kone, 2007**).

Sur milieux usuels, les *Klebsiella* donnent après une incubation de 24 heures à 37°C des colonies généralement lactose (+), rondes, de 3 à 4 mm de diamètre, bombées, muqueuses, ayant une tendance à la confluence (**Daffe, 2018**).

*Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont répandues dans la nature, on peut les isoler de l'eau, de végétaux, d'aliments divers. Ces deux espèces sont rencontrées dans la flore fécale de 30 à 40 pour 100 des animaux sauvages ou domestiques et de l'homme ; elles végètent sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures. *Klebsiella ozaenae* et *Klebsiella rhinoscleromatis* ne sont pratiquement isolées que de l'arbre respiratoire de l'homme (**Kone, 2007**).

L'espèce *Klebsiella pneumoniae* cause parfois d'une façon opportuniste une forme grave de pneumonie chez les humains (**Berdell et al., 2012**).

## 5.5. *Proteus*

Les principales espèces bactériennes appartenant à ce genre sont : *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris*. Contrairement aux autres entérobactéries, ces espèces possèdent des enzymes (la tryptophane désaminase et la phénylalanine désaminase), constituant ainsi un test idéal pour leur identification. Les *Proteus* ont aussi la particularité d'envahir la surface des milieux gélosés solides en boîte de Pétri, présentant un mode de croissance par essaimage où les cellules forment des anneaux concentriques.

*Proteus mirabilis* se distinguent facilement des autres entérobactéries par une uréase + et leur résistance naturelle à la colistine. C'est une espèce habituellement sensible aux antibiotiques (<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>).

**5.6. *Citrobacter***

Les *Citrobacter* sont des bactéries que l'on retrouve fréquemment dans l'eau, le sol, les aliments et les intestins des animaux et des humains. Ils appartiennent au groupe des bactéries ONPG-positives et VP -négatives (**Souna, 2015**).

Ces agents pathogènes ont été associés à un large spectre d'infections impliquant le système nerveux central et les voies gastro-intestinales, urinaires ou respiratoires. Cependant, ces organismes peuvent être responsables d'infections graves, en particulier chez les hôtes immunodéprimés (**Laving et al., 2007**).

*Citrobacter freundii* peut être responsable d'infections urinaires, d'infections de plaies ou encore de septicémies. C'est un germe fréquemment isolé en milieu hospitalier.

Les souches de *Citrobacter diversus* sont impliquées dans des épidémies de méningites néonatales, de septicémies et diverses infections intestinales (**Souna, 2015**).

**5.7. *Serratia***

Le genre *Serratia* comprend dix espèces dont les plus importantes sont : *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* (**Souna, 2015**).

*Serratia ficaria* est fréquemment isolée de figes, et *Serratia rubidaea* est isolée de noix de coco alors que *Serratia marcescens* est une bactérie opportuniste, souvent résistante aux antibiotiques (**Claude, 1990**).

*Serratia*, en particulier *S.marcescens*, a une grande affinité pour les voies urinaires (**Larry et al., 2018**). En milieu hospitalier, on trouve parfois cette bactérie sur les sondes, dans les solutions d'irrigation salines et dans diverses autres solutions (**Berdell et al., 2012**).

**5.8. *Yersinia***

Il s'agit de bacilles plus petits que la plupart des autres entérobactéries, ils apparaissent souvent comme des coccobacilles lorsqu'ils se multiplient à 37°C. *Yersinia* sont immobiles, cultivant lentement, produisant une uréase très active mais pas de tryptophane désaminase (<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>).

Ce genre comprend 4 espèces pathogènes bien caractérisées : *Y.pestis* responsable des pestes bubonique et pulmonaire, *Y.pseudotuberculosis* pathogène des rongeurs et

occasionnellement de l'homme, *Y.ruckeri* provoquant des maladies chez les poissons d'eau douce, et *Y.enterocolitica*, un pathogène intestinal.

*Y.pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica* sont les deux agents pathogènes d'origine alimentaire. Elles atteignent le tractus gastro-intestinal de l'homme et provoquent des entérites, entérocolites, lymphadénites, et rarement des infections extra-intestinales telles que des arthrites. *Y. enterocolitica* est également présente dans l'intestin d'animaux sains tels que des porcs, bovins, chiens et chats (**Ghafir et Daube, 2007**).

### **5.9. Enterobacter**

Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles droits qui se présentent de manière isolée, groupée, ou en courtes chainettes ; mobiles par des flagelles péritriches.

Approximativement 80 % des souches d'*Enterobacter aerogenes* isolées sont entourées par une capsule, la capsule est d'habitude plus mince que celle de *Klebsiella*.

*Enterobacter cloacae* complexe et *Enterobacter aerogenes* représentent les espèces les plus rencontrées en milieu clinique (**Khennouchi, 2016**). Ces deux espèces causent des infections des voies urinaires et des infections nosocomiales. Elles sont très répandues chez les humains et les animaux, ainsi que dans l'eau, les eaux usées et le sol (**Berdell et al., 2012**).

## **6. Pouvoir pathogène**

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*), soit encore saprophytes (*Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*) (**Souna, 2015**).

Certaines entérobactéries sont dangereuses et posent des problèmes au point de vue sanitaire, soit qu'elles génèrent par leur prolifération des substances toxiques à partir du substrat alimentaire (intoxication), soit qu'il s'agisse de bactéries commensales pouvant devenir accidentellement infectieuses ou toxiques, soit qu'il s'agisse d'espèces ou biotypes formellement pathogènes, responsables d'infections (gastro-entérites, syndromes dysentériques) ou de toxico-infections (syndromes cholériques, fièvres typhoïdes) comme *Salmonella*, *Shigella*, certains biotypes d'*Escherichia coli*, etc. (**Berdell et al., 2012**).

## 6.1. Pathogènes opportunistes

Leurs représentants sont isolés à partir des matières fécales, des aliments, de l'eau, du sol, des végétaux, des céréales, etc. Beaucoup d'entérobactéries, d'origine intestinale, peuvent à des degrés divers, être agressives pour l'homme. On les dit « pathogènes opportunistes ».

La fréquence de leurs manifestations pathologiques est en augmentation, car souvent due à l'existence chez ces espèces de plasmides de résistance aux antibiotiques permettant leur sélection et favorisant à leur avantage les dysmicrobismes ([www.microbes-edu.org](http://www.microbes-edu.org)).

## 6.2. Pathogènes spécifiques

Il s'agit des bactéries que l'on ne retrouve pas à l'état commensal (en dehors des porteurs sains) et dont la présence dans les milieux extérieurs n'est qu'un phénomène transitoire. Les maladies qu'elles engendrent sont dues à un défaut d'hygiène et la contamination se produit soit par contact direct, soit par l'intermédiaire d'un vecteur (alimentaire ou animal). Citons les *Salmonella*, les *Shigella*, et les *Yersinia* (**Dembelle, 2018**).

# Chapitre II

## Résistance aux antibiotiques

## **1. Définition des antibiotiques**

Du grec anti : contre et bios : la vie (**Brigitte, 2006**) ; à l'origine, le mot « antibiotique » désigne tout produit microbien, qui, même à de très faibles concentrations, inhibe ou tue certains microorganismes. On l'emploie maintenant dans un sens plus large qui inclut, en outre, toute substance synthétique ou semi synthétique dotée de ces propriétés (**Singleton, 2005**). On nomme ainsi dans l'usage commun « antibiotique » toute substance à activité antibactérienne et sans toxicité pour l'hôte (**Clélia, 2016**).

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

On peut distinguer deux modes d'action des antibiotiques selon qu'ils inhibent la croissance bactérienne (bactériostatiques) ou qu'ils tuent la bactérie (bactéricides) (**Brigitte, 2006**). Certains antibiotiques bactéricides agissent sur les bactéries au repos et en multiplication ; la colistine, les aminoglycosides, les aminocyclitols (spectinomycine), ainsi que les quinolones et fluoroquinolones appartiennent à cette catégorie. D'autres agissent uniquement sur les germes en multiplication, ce sont les bêta-lactamines (**Clélia, 2016**).

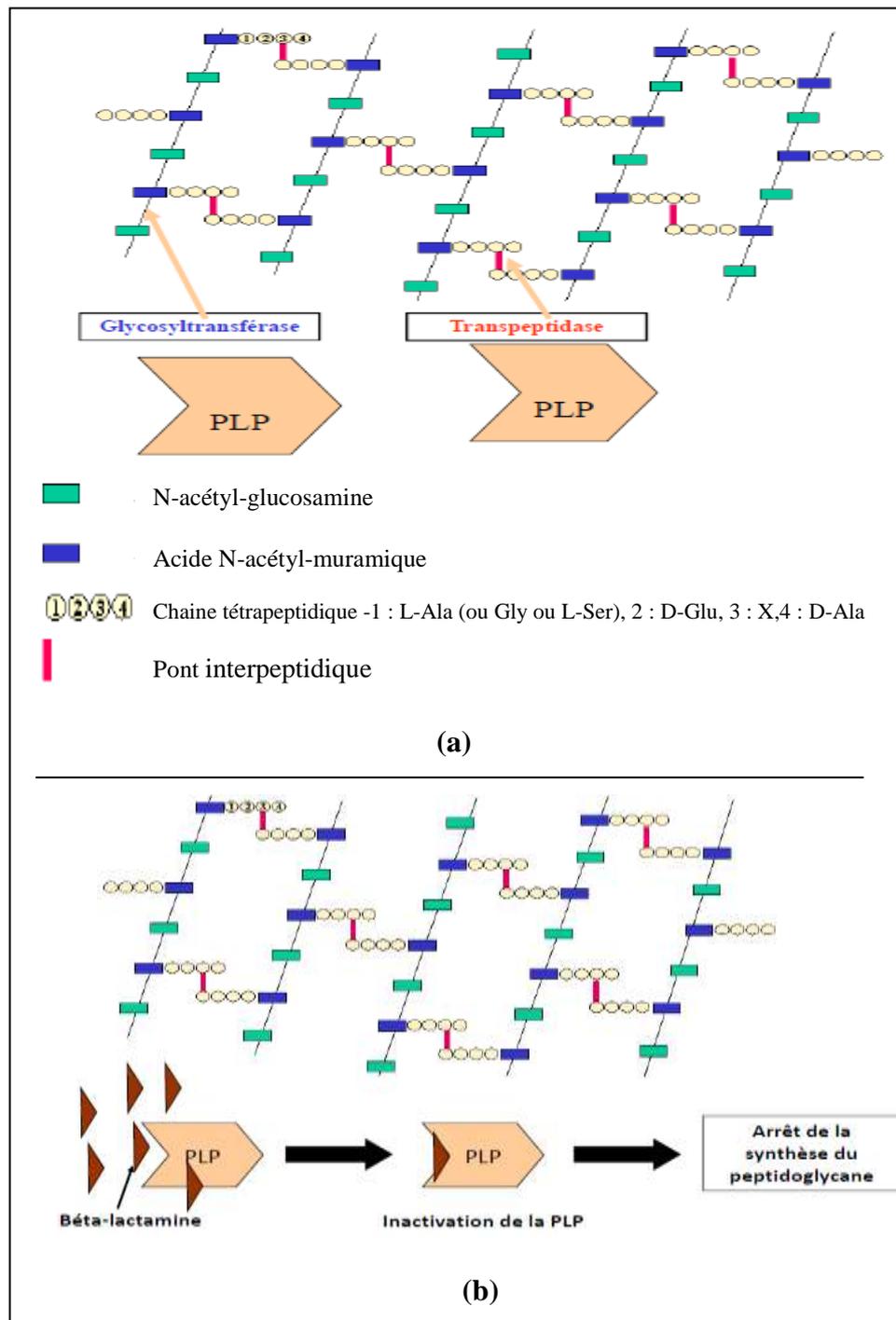
Un antibiotique agit en un site bien précis. Cette cible peut être située dans la paroi cellulaire, dans la membrane cytoplasmique, dans la machinerie de synthèse des protéines, ou dans la synthèse de l'ADN ou de l'ARN. Les antibiotiques du même groupe ont des cibles similaires ou identiques, et tous affectent la cellule de la même façon. Peu fréquemment, il arrive que des antibiotiques de groupes différents aient un site cible commun. Par exemple, le site cible des oxazolidinones chevauche celui du chloramphénicol et de la lincomycine (**Singleton, 2005**).

## **3. Principales familles d'antibiotiques et mécanismes d'action**

### **3.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane**

#### **3.1.1. Antibiotiques à noyau bêta-lactame ou bêta-lactamines**

Ils se fixent de manière covalente à des enzymes à activité trans-peptidase qui interviennent normalement dans la fabrication de la paroi bactérienne, notamment le peptidoglycane (**figure 02**). Ces antibiotiques ne détruisent pas la paroi déjà constituée, mais détruisent les germes en multiplication (**Clélia, 2016**).



**Figure 02** : Le peptidoglycane bactérien : **(a)** Structure et synthèse ; **(b)** Action des bêta-lactamines (Mainardi, 2015).

### 3.1.2. Glycopeptides

Ils se fixent de manière non covalente sur la partie D-Ala-D-Ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane. De ce fait, la polymérisation est

inhibée (Ndiaye, 2005) (figure 03). Leur spectre d'activité ne concerne que les bactéries à Gram positif car leur taille importante ne leur permet pas de franchir la membrane externe des bactéries à Gram négatif (Eddayab, 2012).

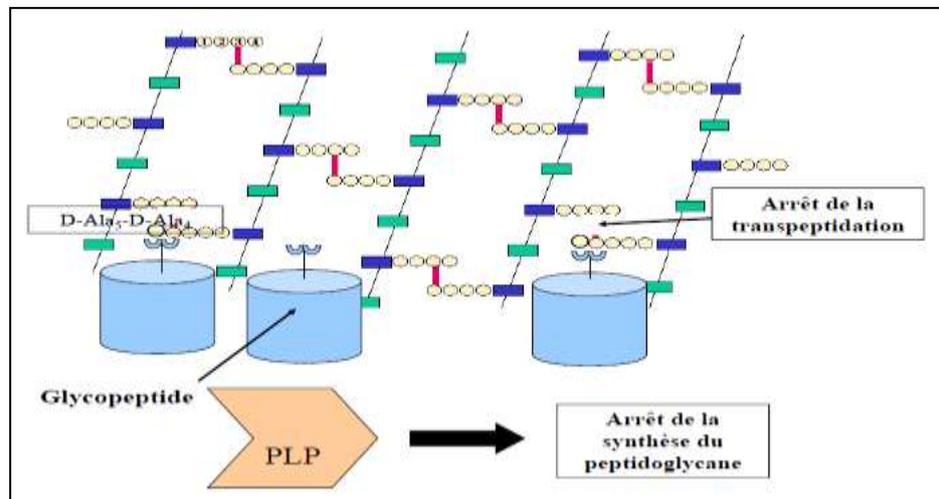


Figure 03 : Action des glycopeptides sur le peptidoglycane bactérien (Mainardi, 2015).

### 3.1.3. Fosfomycine

Elle se fixe de manière covalente (Ndiaye, 2005) sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétyl-muramique qui est l'un des composants du précurseur du peptidoglycane de la paroi bactérienne (figure 04), ce qui a pour conséquence de bloquer sa synthèse. Le mode d'action de la fosfomycine nécessite sa pénétration intracytoplasmique (Hnich, 2017).

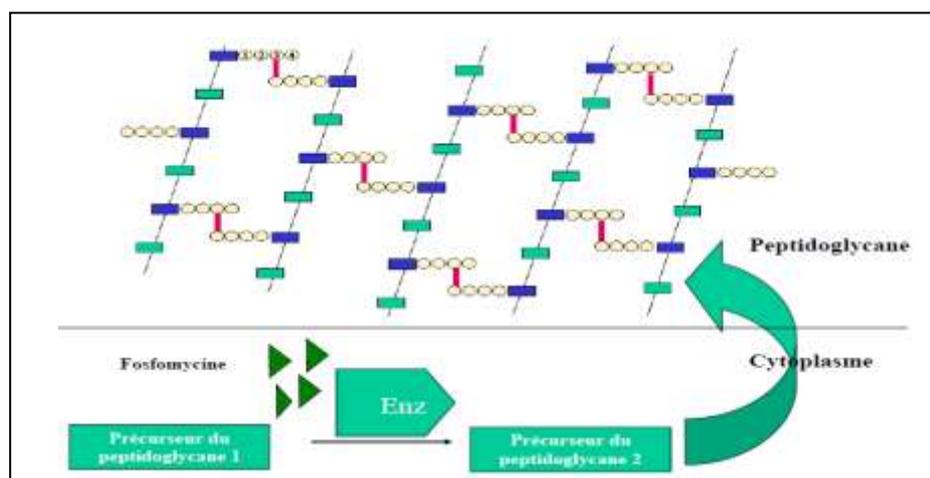


Figure 04 : Action de la fosfomycine (Mainardi, 2015).

**3.2. Antibiotiques actifs sur la membrane bactérienne**

Les antibiotiques de nature polypeptidique comme les polymyxines, la gramicidine et les antibiotiques voisins agissent sur la membrane cytoplasmique à la manière des agents tensioactifs du fait d'une charge positive.

Les molécules de gramicidine forment un pore traversant une partie de la membrane plasmique, ce qui permet le passage d'ions monovalents. L'intégrité de la structure de la membrane n'est plus maintenue, en particulier l'effet de barrière osmotique. Les cellules, dont la plupart des constituants s'échappent, dégèrent puis meurent, atteintes dans leurs fonctions vitales essentielles (**Meyer et al., 2004**).

Les polymyxines pénètrent à l'intérieur de la membrane par leur extrémité hydrophobe et s'incorporent à la couche de phospholipides de la membrane alors que l'extrémité hydrophile reste orientée vers l'extérieur. Il en résulte une désorganisation de la structure membranaire, ce qui provoque la mort de la cellule (**Eddayab, 2012**). L'antibiotique le plus utilisé est la colistine (**Ndiaye, 2005**).

Les bactéries à Gram négatif sont beaucoup plus sensibles que les bactéries à Gram positif car elles contiennent plus de phospholipides dans leur cytoplasme et leurs membranes externes (**Jill et al., 2008**).

**3.3. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique**

Un certain nombre d'antibiotiques agissent sur la synthèse des protéines au niveau des ribosomes en empêchant la lecture du code ou en la faussant (**Meyer et al., 2004**).

**3.3.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome****3.3.1.1. Aminosides (ou aminoglycosides)**

Ces antibiotiques incluent l'amikacine, la gentamicine, la kanamycine, la néomycine et la streptomycine. Ils sont actifs sur les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif (**Singleton, 2005**).

La streptomycine se fixe sur une région de la sous-unité 30S du ribosome et, en provoquant des erreurs de reconnaissance codons – anticodons, entraîne l'incorporation d'acides aminés erronés dans la chaîne peptidique en formation (**Eddayab, 2012**).

C'est ainsi que de faibles concentrations de streptomycine provoquent des erreurs de lecture de l'ARNm tandis que des concentrations élevées inhibent complètement la synthèse des protéines, apparemment en bloquant les ribosomes spécifiquement au début de la traduction (Singleton, 2005).

### **3.3.1.2. Tétracyclines**

Ces antibiotiques inhibent la synthèse des protéines en se liant au ribosome et en inhibant la fixation des aminoacyl-ARNt au site A (Singleton, 2005).

### **3.3.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome**

#### **3.3.2.1. Chloramphénicol**

Il intervient en inhibant le processus de transpeptidation, c'est-à-dire la formation de liaisons peptidiques entre les acides aminés (Meyer *et al.*, 2004).

#### **3.3.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines**

Parmi les macrolides on peut citer l'érythromycine, l'oléandomycine, l'azithromycine, et parmi les lincosamides on peut citer la lincomycine et la clindamycine. Les streptogramines sont formées de deux molécules : la pristinamycine et la virginiamycine agissant de manière synergique (Ndiaye, 2005).

Tous ces antibiotiques se fixent sur la fraction 50S des ribosomes et empêcheraient la pénétration ou la fixation du complexe acide aminé-ARNt ou le passage de ce complexe au niveau de deux sites voisins, c'est-à-dire la translocation (Meyer *et al.*, 2004).

#### **3.3.2.3. Autres aminosides**

Les autres aminosides ont des actions similaires à la streptomycine. Cependant, ils se fixent à la fois sur la sous-unité 30S et 50S du ribosome mais agissent aussi sur d'autres stades de la traduction (**figure 05**) (Eddayab, 2012).

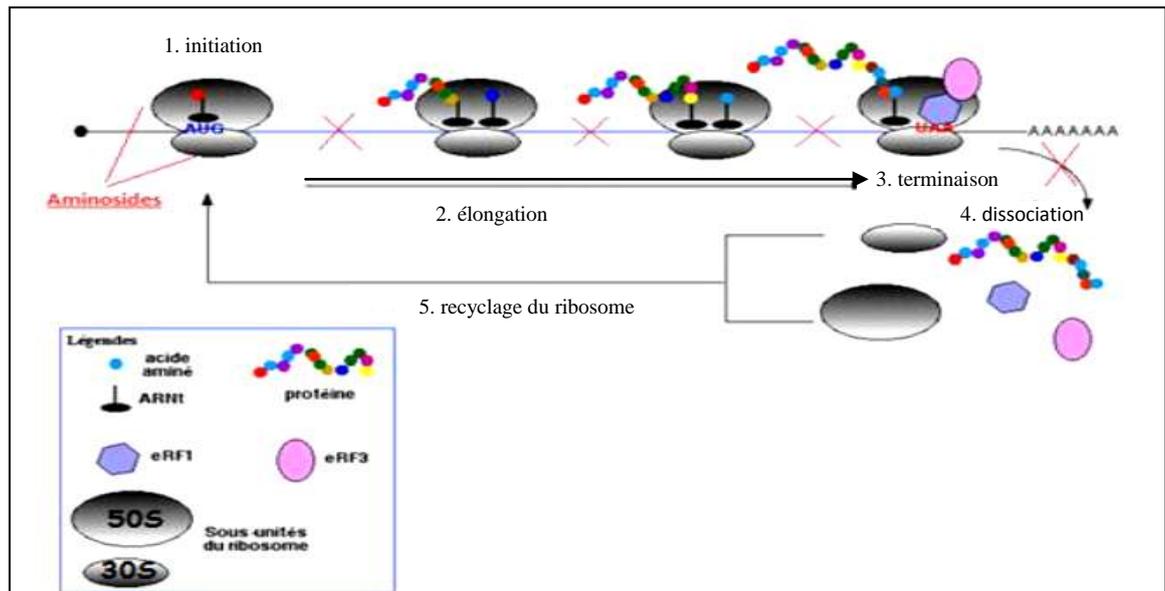


Figure 05 : Mécanisme d'action des aminosides (Eddayab, 2012).

### 3.3.3. Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G

C'est le mode d'action de l'acide fusidique (Ndiaye, 2005).

## 3.4. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

### 3.4.1. Quinolones

À l'intérieur de la cellule, les cibles préférées pour les quinolones sont les topoisomérases (en particulier, la topoisomérase II et la topoisomérase IV) (Khennouchi, 2016). Elles inhibent ces enzymes en se fixant sur le complexe formé par la topoisomérase et l'ADN (Ndiaye, 2005) (figure 06).

Si un atome de fluor est attaché au système d'anneau central, une quinolone est transformée en fluoroquinolone (Muylaert et Mainil, 2013). Les quinolones sont en général actives contre les *Enterobacteriaceae* tandis que les fluoroquinolones sont plus efficaces à une gamme plus large de bactéries (Khennouchi, 2016).

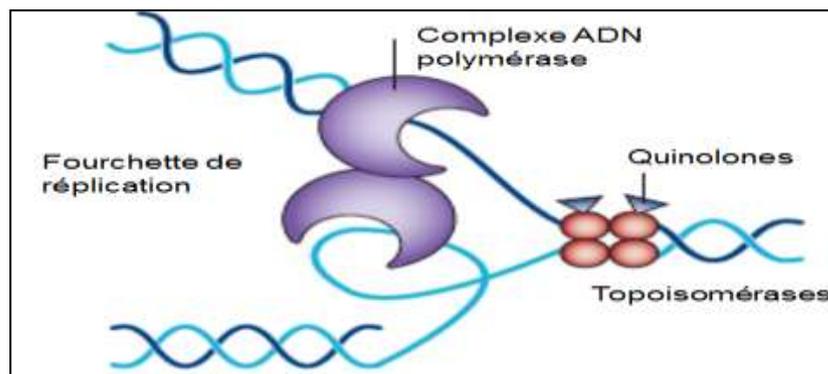


Figure 06 : Action des quinolones (Michael *et al.*, 2010).

### 3.4.2. Nitro-imidazole

Le métronidazole est la molécule la plus employée ; elle libère dans les bactéries anaérobies des dérivés très réactifs qui provoquent des coupures de l'ADN (Ndiaye, 2005).

### 3.4.3. Nitrofuranes

L'activité des nitrofuranes nécessite une réduction de leur groupement NO<sub>2</sub> réalisée par les nitroréductases des bactéries aérobies. Les dérivés réduits provoquent des coupures et des mutations dans l'ADN (Eddayab, 2012).

### 3.4.4. Sulfamides et triméthoprime

Les sulfamides et le triméthoprime inhibent la voie de synthèse des folates, qui sont des précurseurs indispensables à la fabrication des acides nucléiques et des protéines. Leurs cibles respectives sont la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et la dihydrofolate réductase (DHFR) (Alix, 2015) (figure 07). Le triméthoprime est surtout utilisé en association avec un sulfamide (cotrimoxazole) (Ndiaye, 2005).

### 3.4.5. Rifamycines

Elles inhibent l'ARN polymérase ADN-dépendante en se liant à leur cible de manière covalente (figure 07). Il en résulte un arrêt de la synthèse des ARN messagers (Ndiaye, 2005).

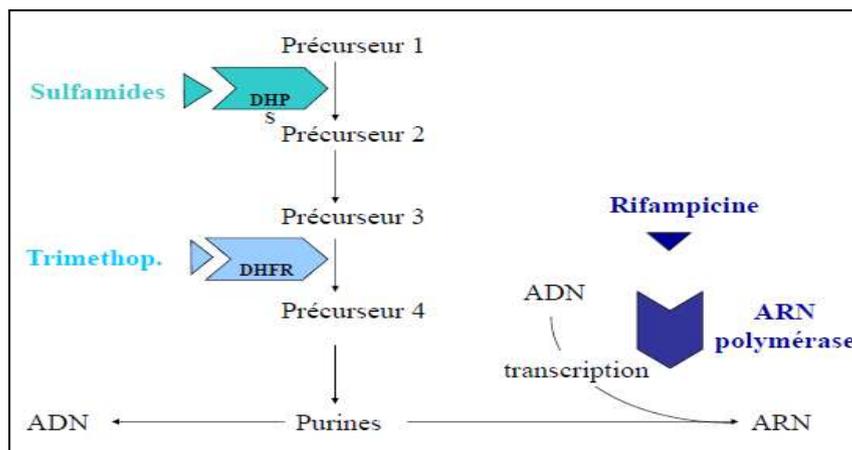


Figure 07 : Mode d'action des sulfamides, triméthoprim et rifampicine (Mainardi, 2015).

## 4. Résistance aux antibiotiques

### 4.1. Définition

La résistance aux antibiotiques ou antibiorésistance est la capacité d'un microorganisme à résister aux effets des antibiotiques (Dembelle, 2018). Une souche microbienne ou une bactérie sont aussi dites résistantes quand elles supportent une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce ou des individus de la même culture (Guillot, 1989).

L'antibiorésistance peut toucher toutes les familles d'antibiotiques habituellement actives sur les entérobactéries. Elle est variable en fonction de l'espèce et de la souche (Dembelle, 2018).

### 4.2. Différents types

#### 4.2.1. Résistance naturelle

Un microorganisme peut présenter une résistance naturelle vis-à-vis de certains antibiotiques. Il s'agit d'un caractère chromosomique qui correspond à une propriété de l'espèce et qui peut être retenue comme critère d'identification. Cette propriété génétique est toujours transmissible à la descendance (transmission verticale), car portée par un chromosome, alors que la transmission horizontale est très rare ou inexistante. La résistance naturelle détermine les phénotypes « sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques (<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>)

Pour citer un exemple, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) résiste naturellement à toutes les  $\beta$ -lactamines (**Battraud, 2017**).

### 4.2.2. Résistance acquise

Elle ne concerne qu'une proportion plus ou moins importante, variable dans le temps, de souches d'une espèce ou d'un genre ; elle existe grâce à l'acquisition d'un (ou de plusieurs) mécanisme de résistance. La résistance acquise souvent médiée par un support génétique faisant partie d'éléments mobiles (plasmides, transposons), a la faculté d'être transmissible horizontalement, parfois entre espèces différentes. Elle peut aussi résulter de la modification du patrimoine génétique après mutation (10%). On dit qu'elle est chromosomique (<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>).

### 4.3. Mécanismes de résistance

La résistance aux antibiotiques peut impliquer l'un des mécanismes suivants :

#### 4.3.1. Absence de pénétration

Certains antibiotiques ne pénètrent dans la cellule que grâce à une perméase spécifique, l'absence ou le non fonctionnement de celle-ci mettra la cellule à l'abri des effets de l'antibiotique. Ce phénomène peut être naturel ou acquis (**figure 08, (b)**).

Chez les bactéries Gram négatif, la membrane externe surmontée de LPS constitue une barrière naturelle à la pénétration des ATB. Cependant, il existe des porines hydrophiles qui traversent la membrane externe et permettent le passage d'ATB.

Certaines mutations peuvent entraîner :

- Une diminution de nombre de porines ou même altérer leur perméabilité
- Une inactivation du mécanisme oxydatif nécessaire au transport actif de certains ATB (**Rogard, 2017**).

La plus grande efficacité d'autres  $\beta$ -lactamines (céphalosporines, ampicilline) sur les bactéries à Gram négatif est due à une meilleure pénétration de l'antibiotique (**Daffe, 2018**).

4.3.2. Modification de la cible

Une mutation peut modifier le site de fixation de l'antibiotique de sorte que celui-ci ne s'y lie pas (Kone, 2007). Ce mécanisme comprend les modifications des PLP (les cibles des bêta-lactamines), la modification de la cible ribosomiale, l'altération de la synthèse des acides nucléiques, la modification du précurseur du peptidoglycane, la modification enzymatique de la cible (Ziai, 2014).

Les antibiotiques agissent de façon spécifique en se fixant sur certains sites cellulaires.

De ce fait, une faible modification structurale des sites de fixation des ATB peut diminuer ou supprimer l'affinité de certains antibiotiques pour leurs récepteurs bactériens. C'est le cas de la résistance de certaines bactéries aux macrolides, sulfamides, aminocyclitols (Aïssatou, 2004) (figure 08, (c) et (d)).

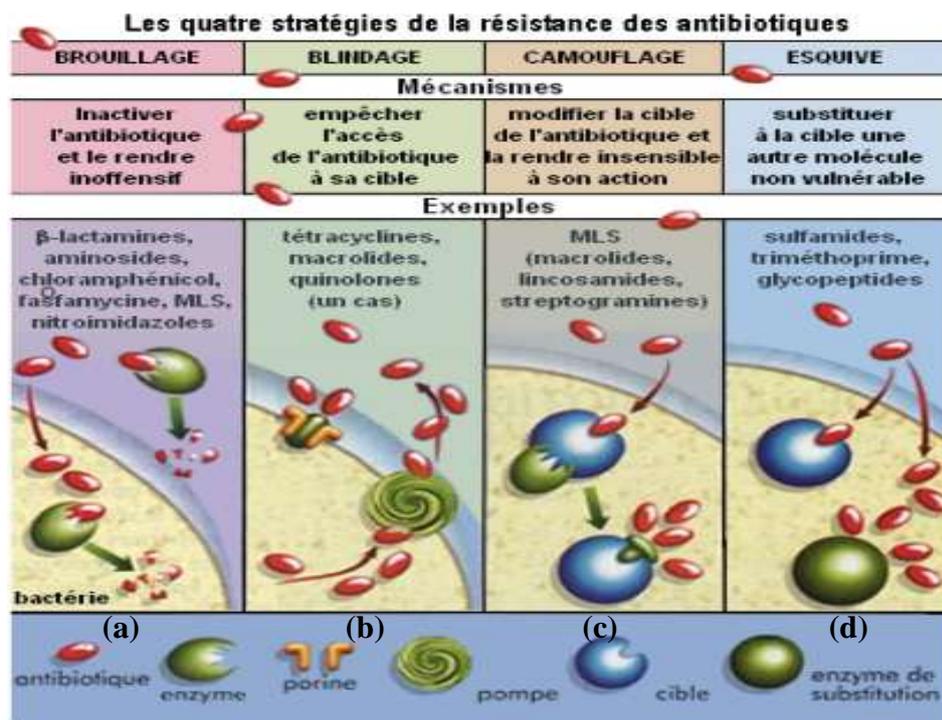


Figure 08 : Principales stratégies bactériennes de la résistance aux antibiotiques (Battraud, 2017).

**4.3.3. Production d'enzyme**

Les antibiotiques sont susceptibles d'être dégradés par voie enzymatique (**Daffe, 2018**). Certains antibiotiques sont détruits par des enzymes sécrétées par les bactéries avant même d'avoir eu le temps de parvenir à leur site d'action. C'est le principal mécanisme de résistance des bactéries aux bêta-lactamines, aminosides, et chloramphénicol (**Aïssatou, 2004**) (**figure 08, (a)**).

Parmi ces enzymes, on note les bêta-lactamases dont on distingue plusieurs types (les pénicillinases, les céphalosporinases, les bêta-lactamases à spectre étendu, les carbapénèmases, etc.), les enzymes inactivant les aminosides et celles inactivant les quinolones (**Ziai, 2014**).

**4.3.4. Changement de voie métabolique**

Certains antibiotiques agissent en bloquant des voies métaboliques ; ainsi, la gramicidine inhibe les phosphorylations oxydatives. La cellule peut éventuellement mettre en œuvre une autre voie métabolique qui permet de « doubler » la voie bloquée, ce qui la rend alors résistante à l'antibiotique (**Daffe, 2018**).

**4.3.5. Mécanisme d'efflux**

Certains systèmes de transport sont capables de pomper vers l'extérieur, à travers la membrane cytoplasmique ou l'enveloppe cellulaire des antibiotiques particuliers ; par exemple, la protéine inductible de la membrane cytoplasmique tet (=TET) assure l'efflux de tétracyclines chez certaines bactéries à Gram négatif (**Kone, 2007**).

**4.3.6. Persistance des bactéries**

Lors d'un traitement antibiotique, une petite fraction des cellules bactériennes, dites persistantes, ne sera pas tuée. Ces cellules pourront revenir dans un état normal une fois le traitement antibiotique terminé.

Il y a donc persistance du germe dans l'organisme, même en présence de l'antibiotique. Ce mécanisme de résistance implique la perte ou la diminution structurelle ou fonctionnelle d'un gène. Le métabolisme bactérien diminue alors, et les antibiotiques ciblant en général une étape du métabolisme ont peu d'effet (**Ziai, 2014**).

**4.3.7. La réponse SOS bactérienne**

C'est un mécanisme de régulation qui permet l'adaptation et l'évolution de la bactérie quand les conditions environnementales l'exigent. C'est un système conservé, induit à la suite de stress causant des dommages à l'ADN, et qui est essentiel à la réparation de l'ADN et à la reprise de la réplication (**Ploy et Re, 2012**).

Ce système est composé de protéines impliquées dans la réparation d'ADN dont les ADN polymérases. Ces dernières n'ayant pas d'activité de correction d'erreur, favoriseront l'introduction d'erreurs lors de la réplication de l'ADN et faciliteront ainsi l'émergence de mutations et l'adaptation de bactéries (**Ziai, 2014**).

**4.3.8. Développement de biofilms**

Certaines espèces bactériennes sont naturellement capables de former un biofilm. Il s'agit en effet, d'une protection qu'elles sont capables de synthétiser avec comme caractéristiques, l'augmentation de l'épaisseur des glycanes (pour ralentir la diffusion de l'antibiotique qui sera dilué dans le milieu et plus longtemps exposé aux enzymes de dégradation). Ce biofilm chargé négativement va retenir certains antibiotiques comme les aminosides qui ne pourront pas atteindre leur cible d'action. Le pH du biofilm peut évoluer lui aussi avec pour conséquence une inactivation de certains antibiotiques pH sensible. De plus chez certaines bactéries, les pompes d'efflux ne sont présentes que lorsque ce film est présent, l'antibiotique sera ralenti et exclu de la cellule bactérienne via ces pompes, c'est le cas par exemple d'*E. coli O157* (**Battraud, 2017**).

# Chapitre III

## Les viandes de volaille

## **1. Définition**

Une volaille est un oiseau domestique, appartenant généralement aux gallinacés ou aux palmipèdes, élevé pour sa chair ou ses œufs, soit en basse-cour traditionnelle soit en élevage industriel (**Chougui, 2015**). L'un des différents types d'oiseaux inclus sous ce terme est la dinde, pesant entre 10 et 20 Kg suivant les souches et élevé pour sa chair, elle sert également, à produire du foie gras ; son plumage est généralement de couleurs bronzées (noir avec des reflets dorés), mais on trouve aussi des animaux au plumage blanc (**Chougui, 2015 ; Zitouni, 2015**).

La viande de volaille recouvre tout un ensemble de produits, allant des carcasses aux viandes restructurées, en passant par les produits de découpe et différents produits de transformation actuellement commercialisés sous des formes diverses (**Bourgeois et al., 1996**). C'est la deuxième viande la plus consommée au monde, représentant environ 30% de la production de viande dans le monde, après le porc, avec 38% (<https://www.definitions.net/definition/poultry>).

## **2. Structure et composition**

Toutes les viandes, qu'elles proviennent d'animaux d'élevage, de gibier à plume ou à poil, ont la même structure. Elles sont composées, pour l'essentiel, de fibres musculaires, de tissu adipeux (gras) et de tissu conjonctif (collagène). La proportion de ces diverses composantes, leur couleur et leur texture peuvent cependant varier (**Blais, 2008**).

Les viandes de volaille contiennent 73 à 78 % d'eau, 18 à 24 % de protéines, 0,5 à 7,5 % de lipides et environ 1 % de minéraux (**Jouini et al., 2010**). En fait, ces produits sont relativement pauvres en graisses avec une teneur en moyenne de 2,9 g de lipides totaux. La dinde est la viande la moins grasse avec en moyenne une teneur en lipides totaux de 2,1 g.

Quant à la fraction non lipidique, les muscles de volaille ne contiennent pas de glucides ou alors très peu (environ 1 %), principalement sous forme de glycogène. Ainsi, les protéines, l'eau et les cendres peuvent être considérés comme les seuls éléments faisant partie de la fraction non lipidique.

Les muscles de poulet et de dinde contiennent environ 75g d'eau (pour 100g de viande crue). Après l'eau, les protéines sont les composants principaux des tissus musculaires avec une valeur moyenne de 20 à 22 g pour 100 g de viande ; la dinde contient une teneur de 21,9 g pour 100g de muscle en moyenne.

La viande de volailles contient peu de magnésium (en moyenne 25mg/100g), une teneur importante en potassium, une grande quantité de phosphate et une faible teneur de sodium (en moyenne 70mg/100g). Leur teneur en vitamines liposolubles est très faible, alors que les vitamines hydrosolubles sont bien présentes (**Brunel et al., 2011**). La viande de volailles est donc un aliment de grande valeur nutritionnelle.

### **3. Microbiologie des viandes de volaille**

La chair d'un animal sain vivant est pratiquement stérile (**Guiraud, 2003**). Cependant, sa composition en eau et en protéines de haute valeur biologique fait qu'elle est une niche très favorable au développement des microorganismes (**Benaïssa, 2011**). On distingue une microflore initiale qui regroupe les germes survenus de l'animal vivant jusqu'à l'obtention de la carcasse (**Salifou et al., 2013**). Chez un animal malade, il peut y avoir contamination directe par le système lymphatique. La viande peut aussi se contaminer au moment de l'abattage à partir de la flore de l'intestin, de la peau ou des muqueuses de l'animal (**Guiraud, 2003**).

De même, la transformation de l'animal vivant en carcasse puis en viande s'accompagne généralement d'une contamination au cours du procédé d'abattage. L'abattoir est le point critique majeur de dépôt des germes sur les masses musculaires nouvellement mises à nues (**Salifou, 2013**).

Les volailles subissent généralement un échaudage suivi de la plumaison et éventuellement d'une première découpe (première transformation) ; selon le cas, d'autres découpes sont réalisées (deuxième transformation) ainsi qu'un désossage et diverses opérations (troisième transformation) (**Guiraud, 2003**).

L'origine des bactéries sur une carcasse de volaille à la fin du procédé d'abattage est alors diverse ; la contamination par des bactéries présentes sur les plumes et la peau, dans le contenu digestif et/ou par contact avec les autres carcasses ou le matériel intervient à différentes étapes de la chaîne d'abattage (**Mortureux, 2009**).

En fait, des contaminations sont favorisées par l'échaudage et la plumaison (pour cette raison, celle-ci se fait parfois « à sec ») et/ou par les germes intestinaux au moment de l'éviscération : les germes les plus fréquents sont des *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella (S.enteridis)*, *Listeria*, des coliformes et des levures

(Guiraud, 2003). Certains de ces différents microorganismes sont révélateurs de l'hygiène globale du procédé d'abattage, d'autres sont plus spécifiques d'une contamination d'origine digestive ou encore de la colonisation des équipements de la chaîne d'abattage (Marc, 2009).

### **3.1. Flore caractéristique**

La flore présente à la surface des carcasses de volailles est une flore variée, constituée de bactéries Gram + et de bactéries Gram - ; la répartition qualitative est variée, mais les microorganismes Gram – et aérobies stricts y occupent une grande place.

Pour des raisons de clarté, il est préférable de diviser les différents microorganismes rencontrés dans la viande de volaille en deux principaux groupes :

- **Microflore psychrotrophe** : susceptible de nuire à la conservation, on en cite : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Brochothrix*, Entérobactéries, Corynébactéries, Microcoques, etc.
- **Microflore pathogène** : susceptible d'entraîner des incidents sur le plan de la santé publique; *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Listeria* sont fréquemment isolés à partir des viandes de volaille (Bourgeois et al., 1996).

### **3.2. Modes d'altération du produit et leurs conséquences technologiques, organoleptiques et commerciales**

La prolifération de microorganismes dans un produit alimentaire se traduit par des modifications des qualités organoleptiques généralement détectables quand le nombre de germes dépasse les  $10^6$  par g de produit. Les modifications d'aspect (couleur, limon), de texture ou de flaveur (odeur et saveur) sont souvent défavorables (Cuq, 2007).

Les altérations sont essentiellement dues, lorsque les volailles sont emballées sous film polyéthylène, au développement des *Pseudomonas* qui produisent une odeur de putréfaction caractéristique ; par ailleurs, le développement intensif de ces types de bactéries entraîne la formation de « slime », enduit visqueux présent à la surface des carcasses, et généralement constitué de *Pseudomonas* en culture pure.

Ainsi, des microorganismes aéro-anaérobies tels *Brochothrix thermosphacta* et les lactobacilles se développent lorsque les produits sont conditionnés « sous vide ». Par ailleurs, sous l'effet de différents traitements (l'ionisation par exemple), va se produire un déplacement

de flore. Ainsi, pourront se développer des bactéries appartenant aux genres *Moraxella* et *Acinetobacter* lorsque des produits de volailles conservés sous film polyéthylène sont soumis à ce type de traitement. Dans ce cas se manifestent des odeurs fruitées.

Ces altérations dépendent de la qualité initiale des produits et des conditions de stockage, mais la flore initiale elle-même et ses possibilités de développement dépendent de tout un ensemble de facteurs qui interviennent aux différents stades de la production, de l'élevage (souche, âge d'abattage, alimentation, conditions d'environnement), puis au stade de l'abattage et éventuellement de la transformation (**Bourgeois *et al.*, 1996**).

# Partie 02

## **Matériel et méthode**

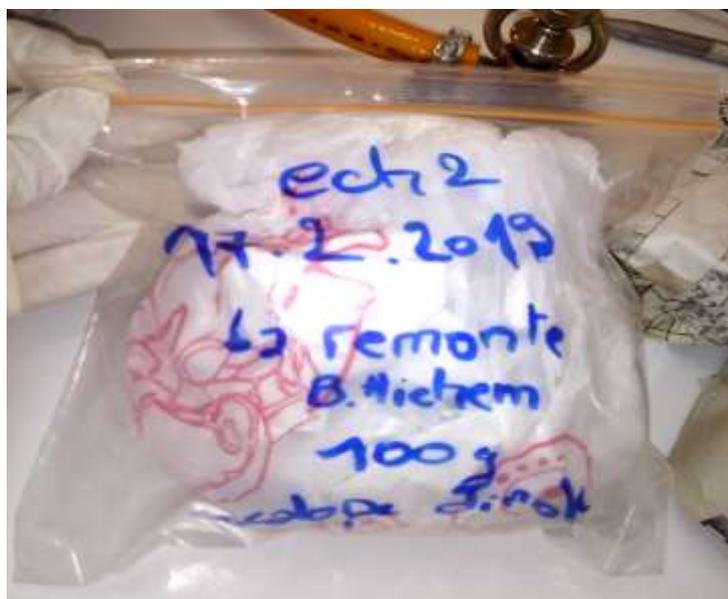
### 1. Objectif et lieu de l'étude

Notre travail a été effectué au niveau du laboratoire de microbiologie, département de biologie appliquée, université Larbi Tébessi, Tébessa ; durant une période s'étendant de 10/02/2019 au 02/05/2019. Il a porté sur des échantillons d'escalopes de dinde prélevés à partir de différentes boucheries de la ville de Tébessa. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées de ce type de viande de volailles.

### 2. Méthodologie

#### 2.1. Prélèvement

Un échantillon de 100 g d'escalopes de dinde est prélevé, aseptiquement, dans un sac plastique, stérile, ligaturé, puis transporté au laboratoire, dans un délai ne dépassant pas deux heures (**figure 09**). Ainsi, 13 échantillons ont été prélevés à partir de différentes boucheries, selon le **tableau 01**.



**Figure 09** : Un échantillon d'escalope de dinde prélevé dans des conditions aseptiques.

**Tableau 01** : Informations relatives aux échantillons prélevés durant l'étude.

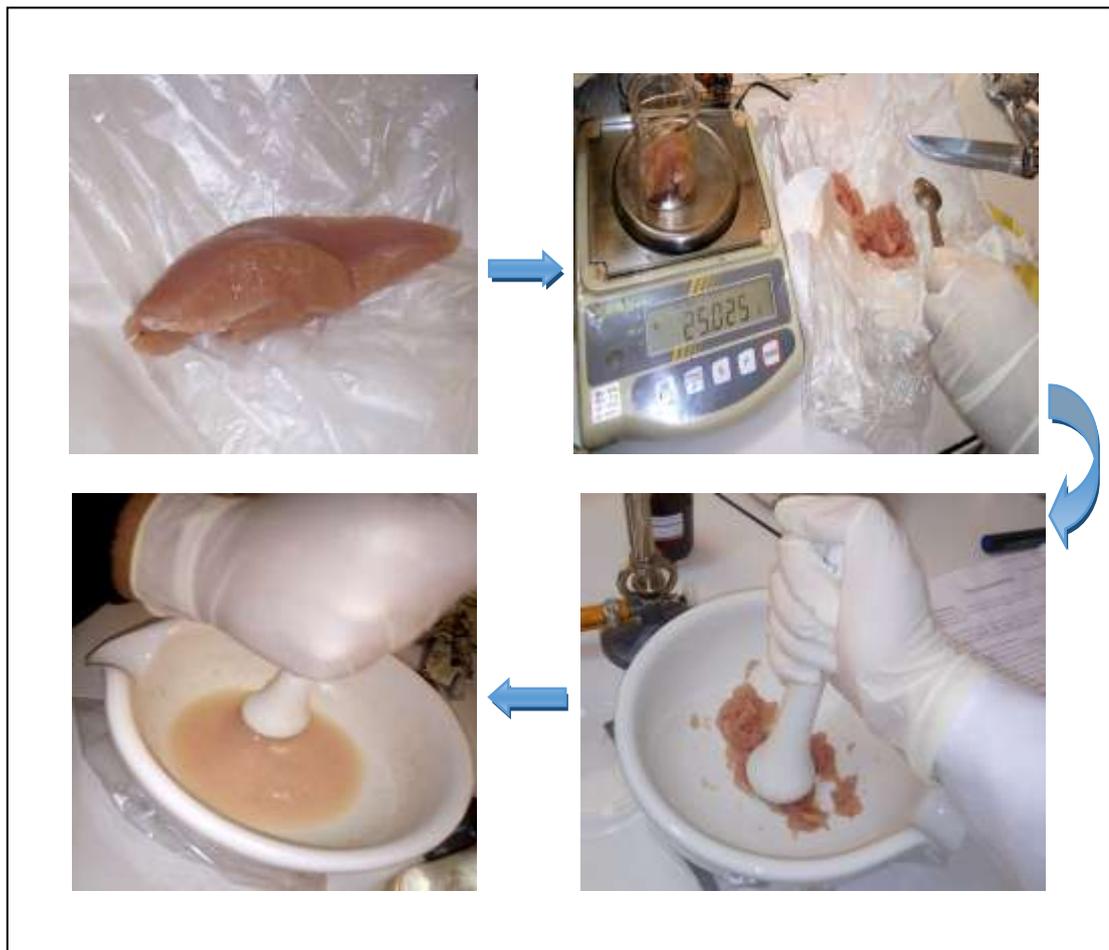
Numéro de l'échantillon	Date de prélèvement	Lieu de prélèvement
01	10-02-2019	Route de Constantine – vendeur 01
02	17-02-2019	La remonte
03	24-02-2019	Le grand marché – vendeur 01
04	24-02-2019	Le grand marché – vendeur 02
05	03-03-2019	Boulevard Houari Boumediene
06	04-03-2019	Grand marché – vendeur 03
07	04-03-2019	Route de Constantine – vendeur 02
08	17-03-2019	Boulevard Djebel El Djorf
09	07-04-2019	Le grand marché – vendeur 04
10	07-04-2019	Le grand marché – vendeur 05
11	07-04-2019	Le grand marché – vendeur 06
12	07-04-2019	Le grand marché – vendeur 07
13	07-04-2019	Le grand marché – vendeur 08

## 2.2. Pré-enrichissement

Au laboratoire, près du bec Bunsen :

- Découper la viande en petits morceaux à l'aide d'un couteau stérile et peser 25 g dans un récipient stérile, puis les transférer dans un mortier stérile.
- Broyer à sec la viande, puis ajouter progressivement 225ml de tryptone sel, en poursuivant le broyage jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.
- Remettre le broyat dans un flacon stérile.
- Incuber pendant 16-24 h à 37° C (**planche 01**).

Une coloration de Gram est effectuée à partir de la suspension du pré-enrichissement avant son incubation, afin d'avoir une idée initiale sur les bactéries y présentes et leurs proportions.



**Planche 01** : Etapes de préparation de la suspension du pré-enrichissement.

### **2.3. Ensemencement pour isolement des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération**

- Après incubation, préparer une dilution dans 9ml de tryptone- sel à partir de la suspension du pré-enrichissement ( $10^{-1}$ ), homogénéiser pour obtenir la dilution  $10^{-2}$ .
- Une solution antibiotique est préparée au préalable, stérilement à raison de 2mg de cefotaxime (CTX) par litre d'eau distillée stérile.
- Prélever 0,1 ml de la suspension et de la dilution précédemment préparée à l'aide d'une pipette graduée ou d'une micropipette et l'ensemencer à la surface de deux boîtes de gélose Mac Conkey (MC) additionnées de 2mg/litre de cefotaxime (CTX) (Kilani *et al.*, 2015). Étaler à l'aide d'un râteau.
- Laisser reposer et sécher sur pailleuse pendant 15 minutes.

- Incuber pendant 24-48 h à 37° C, tout dépendant l'apparition de colonies bien distinctes macroscopiquement.

### 2.4. Recherche des *Salmonella*

- En parallèle, homogénéiser le flacon du pré-enrichissement, prélever 0,5 ml du bouillon et l'inoculer dans 5ml du bouillon Selenite F Broth (SFB).
- Homogénéiser encore et incuber pendant 24 h à 37° C (**phase d'enrichissement**).

Après incubation, si la culture est positive (présence d'un trouble) :

- Ensemencer par la méthode des stries, la surface de deux boites de la gélose *Salmonella-Shigella* (SS) ou la gélose sulfite de bismuth.
- Incuber pendant 24-48 h à 37° C.

### 2.5. Examens macroscopique et microscopique

Après incubation, choisir des colonies bien isolées et faire l'examen macroscopique (description de la forme, la taille, l'aspect et la couleur des colonies) et l'examen microscopique (coloration de Gram) des colonies choisies à partir de toutes les boites ensemencées.

Pour l'examen macroscopique, le choix des colonies se fait en se basant sur les caractères cultureux sur les différents milieux utilisés :

- **MC** : les colonies rouges sont lactose + et les colonies transparentes sont lactose-.
- **SS** : des colonies transparentes sans ou avec centre noir, sont présomptives de *Salmonella*.
- **Gélose de sulfite de Bismuth** : des colonies présentant un reflet métallique entourées de zones de couleur brunâtre-noire, ou des colonies verdâtres-grises, présentant parfois un reflet métallique, avec ou sans noircissement du milieu environnant (**Franz, 2009**).

Après l'examen microscopique, retenir seulement les colonies qui présentent des bacilles à Gram négatif (BGN).

### **2.6. Purification**

- Chaque colonie retenue est repiquée sur une nouvelle boîte du même milieu par des stries éloignées à l'aide de l'anse de platine.
- Incuber pendant 24 h à 37° C.
- Les colonies obtenues après incubation sont examinées macroscopiquement et microscopiquement pour vérifier si elles présentent les mêmes aspects que leurs précédentes du premier isolement.
- Poursuivre la purification (si nécessaire) des isolats à partir des mêmes colonies examinées, jusqu'à l'obtention d'un isolat pur.

### **2.7. Conservation**

- A partir de chaque isolat pur, repiquer par des stries serrées sur la pente d'une gélose nutritive (GN) inclinée en tube.
- Incuber pendant 24 h à 37° C.
- Après incubation, conserver les tubes au réfrigérateur ou à température ambiante en position verticale.

### **2.8. Identification des isolats**

L'identification biochimique est réalisée par la galerie biochimique miniaturisée API 20E.

#### **2.8.1. Principe et description de la galerie API 20E**

API 20E est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés, associée d'un fond et d'un couvercle réunis pour former la boîte d'incubation (**figure 10**). Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (**annexes IV**) et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (**BioMérieux, 2010**).



(a)

(b)

**Figure 10** : La galerie API 20E avec son couvercle (a) et son fond (b).

### 2.8.2. Technique

- **Préparation d'une culture jeune**

Repiquer sur GN en boîte, chaque isolat conservé et incubé pendant 24 h à 37° C, afin d'obtenir une culture jeune idéalement prête à l'identification.

- **Préparation de l'inoculum**

- Un volume de 10 ml d'eau physiologique stérile est transféré stérilement à l'aide d'une pipette graduée dans un tube à essai.
- Avec l'anse stérile, prélever des colonies bien isolées à partir de la culture jeune.
- Réaliser une suspension bactérienne dense en homogénéisant soigneusement les colonies prélevées, dans l'eau physiologique.

- **Préparation de la galerie**

- Un petit volume (environ 5 ml) d'eau distillée stérile est prélevé à l'aide d'une micropipette et réparti dans les alvéoles du fond pour assurer une atmosphère humide.
- Noter le code de la souche sur la languette latérale du fond et non pas sur le couvercle.
- Retirer la galerie de sa poche et placer-la dans la boîte d'incubation.

- **Inoculation de la galerie**

- Introduire la suspension bactérienne dans chaque microtube de la galerie à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant, pour éviter la formation de bulles au fond du tube :

- Pour les tests CIT, VP et GEL (encadrés), remplir tube et cupule (la partie en tête du tube).
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE (soulignés), créer une anaérobiose en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine.
- Pour les autres tests (ni encadrés ni soulignés), remplir uniquement les tubes (et non les cupules).

- Refermer la boîte d'incubation. Incuber pendant 18-24 h à 37° C.

- **Lecture et interprétation**

- Après incubation, on procède à une lecture de la galerie :

- Si 3 tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs :

- Noter sur la fiche de résultats accompagnante de la galerie toutes les réactions spontanées.

- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (tests TDA, IND, VP et GLU) en ajoutant 1 goutte de réactif approprié à chaque test (réactifs TDA, Kovacs, VP1 et VP2, NIT1 et NIT2).

**N.B :** le test IND est réalisé en dernier, car la réaction libère des gaz qui risquent de fausser l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ainsi, le couvercle de la boîte n'est pas remis après l'ajout de réactif.

- La lecture est immédiate pour TDA et IND, après 10 minutes au minimum pour VP, après 2-3 minutes pour GLU et si négatif, il sera additionné à l'aide d'une pince stérile d'une pincée de poudre de zinc et attendre encore 5 minutes pour lire le résultat. Noter les résultats sur la fiche.

- Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3, la galerie est incubée encore 24 h sans ajout des réactifs. Après incubation, elle sera lue en suivant les mêmes étapes énoncées ci-dessus.

- Après lecture, on procède à l'interprétation à l'aide d'un logiciel d'identification (feuille Excel pour l'identification microbienne).

### 2.9. Antibiogramme

#### 2.9.1. Définition

L'antibiogramme est un test particulier en biologie clinique. Il constitue l'outil de mesure de la résistance bactérienne (**Marcel, 2005**). C'est autrement l'étude de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentrations réalisées dans un milieu de culture (**Ndiaye, 2005**). On en distingue plusieurs méthodes : par dilution, par diffusion ou automatisées (**Meyer et al., 2004**).

#### 2.9.2. Principe

L'antibiogramme a été réalisé selon la méthode de diffusion en milieu gélosé qui est la plus utilisée par les laboratoires cliniques (**Souna, 2011**).

Cette méthode consiste à déposer des disques de papier buvard imprégnés de concentration déterminée d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé. Dès l'application des disques, l'antibiotique diffuse à partir du disque de manière uniforme dans la gélose et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. (**Ndiaye, 2005 ; Souna, 2011**).

#### 2.9.3. Technique

On a utilisé une gamme d'antibiotiques choisie selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie « **CA-SFM, 2018** » (**Richard et al., 2008**) (**tableau 02**).

- **Préparation du milieu**

Le milieu utilisé est la gélose Mueller Hinton (MH) qui doit être coulée à une épaisseur de 4 mm  $\pm$  0.5 mm (approximativement 25 ml pour une boîte de 90 mm de diamètre).

- **Préparation de l'inoculum**

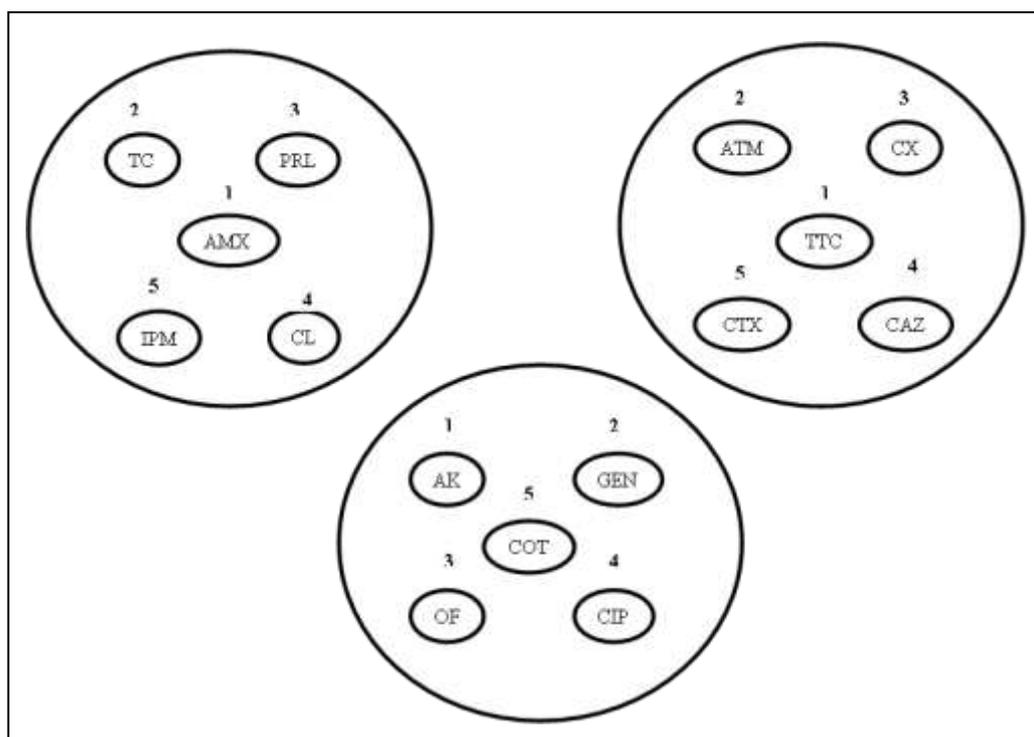
Une suspension bactérienne légère est préparée à partir d'une culture jeune de 18-24 heures sur GN en prélevant au moins 03 colonies, en les émulsionnant dans 05 ml d'eau physiologique stérile.

- **Ensemencement de la gélose**

- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et égoutter-le sur les parois du tube pour éliminer l'excès de liquide.
- Ecouvillonner sur la totalité de la surface du milieu MH dans trois directions avec des stries serrées.
- Les boîtes sont laissées sur paillasse pendant 15 minutes pour séchage.

- **Dépôt des disques et incubation des boîtes**

- Les disques sont déposés (**Figure 11**) soigneusement à l'aide d'une pince stérile à plat sans déplacement (car la diffusion des antibiotiques est très rapide) et appuyés légèrement, à la surface du milieu MH séché ; avec une distance minimale de 15 mm séparant le disque périphérique du bord de la boîte et une distance minimale de 30 mm séparant chaque disque des autres.
- Les boîtes sont incubées pendant 16-24 h à 37° C (couvercle en haut).



**Figure 11** : Schéma représentatif de la disposition et de l'ordre de dépôt des antibiotiques utilisés.

- **Mesure des zones d'inhibition et catégorisation clinique**

- Après incubation, examiner les boîtes et procéder à la mesure et la catégorisation pour toute boîte présentant une culture conflente, répartie sur toute la surface de la gélose de façon délimitant des zones d'inhibition circulaires.
- Les diamètres des zones d'inhibition (dont les bordures sont lues à l'œil nu) sont mesurés au millimètre le plus proche avec une règle.
- L'interprétation est effectuée par référence au **tableau 02** où figurent les diamètres critiques, après comparaison entre les diamètres mesurés et ceux recommandés. Le phénotype est alors détecté :
  - Si le diamètre mesuré est  $\geq D$  : souche sensible (S).
  - Si le diamètre mesuré est  $< d$  : souche résistante (R).
  - Si  $d \leq$  diamètre mesuré  $< D$  : souche intermédiaire (I).

**Tableau 02** : Liste des antibiotiques testés (CA-SFM, 2018).

	Famille	Antibiotique	Sigle	Charge du disque	Diamètres critiques		
					R(d)	I	S(D)
<b>β-Lactamines</b>	Aminopénicillines	Amoxicilline	AMX	25 µl	<19	≥19	
	Carboxypénicillines	Ticarcilline	TC	75 µl	<20	≥23	
	Uréidopénicillines	Pipéracilline	PRL	100 µl	<17	≥20	
	Carbapénèmes	Imipénème	IPM	10 µl	<16	≥22	
	Clavams	Ticarcilline+Acide clavulanique	TTC	75-10 µl	<20	≥23	
	Monobactames	Aztréonam	ATM	30 µl	<21	≥26	
	C1G	Céfalexine	CL	30 µl	<14	≥14	
	C2G	Céfoxitine	CX	30 µl	<15	≥19	
	C3G	Céfotaxime	CTX	30 µl	<17	≥20	
Ceftazidime		CAZ	30 µl	<19	≥22		
<b>Aminoglycosides</b>	Amikacine	AK	30 µl	<13	≥16		
	Gentamicine	GEN	10 µl	<14	≥17		
<b>Fluoroquinolones</b>	Ofloxacin	OF	5 µl	<22	≥24		
	Ciprofloxacine	CIP	5 µl	<24	≥26		
<b>Triméthoprim-sulfamides</b>	Co-Trimoxazole	COT	1.25-23.75 µl	<11	≥14		

**C1G** : céphalosporines première génération.

**C2G** : céphalosporines deuxième génération.

**C3G** : céphalosporines troisième génération.

# Partie 03

## Résultats et discussion

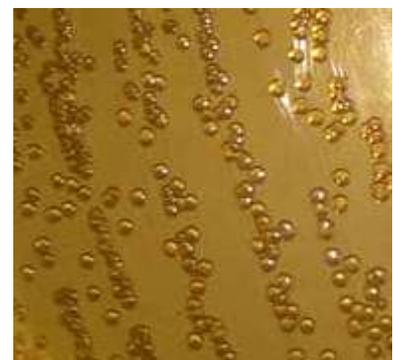
## 1. Examen macroscopique

Parmi 13 échantillons d'escalopes de dinde, la culture s'est révélée positive pour 12 échantillons soit 92.3 % sur gélose Mac conkey, et pour les 13 échantillons soit 100% sur gélose SS et gélose de sulfite de Bismuth.

Les principaux aspects macroscopiques des colonies obtenues sur les différents milieux de culture utilisés sont décrits dans **le tableau 03**, puis présentés par les **figures 12, 13 et 14**.

**Tableau 03** : Description des colonies obtenues sur les différents milieux de culture utilisés.

Caractère Milieu	Aspect	Taille	Forme	Élévation	Contours	Consistance	Couleur
Gélose MC	(a)	Petite ou moyenne	Ronde	Bombée, convexe, ou plate	Régulier	Laitieuse ou sèche	Rouge ou rose (entourée souvent d'un halo opaque)
	(b)	Petite ou moyenne	Ronde	Bombée ou convexe	Régulier	Laitieuse ou sèche	Transparente
Gélose SS	(c)	Moyenne	Ronde	Bombée	Régulier	Laitieuse	Transparente sans centre noir
	(d)	Moyenne	Ronde	Bombée	Régulier	Laitieuse	Transparente avec centre noir
Gélose de sulfite de Bismuth	(e)	Moyenne	Ronde	Bombée	Régulier	Muqueuse	Noire avec un reflet métallique



**Aspect (a)** : Isolat E06S08

**Aspect (a)** : Isolat E04S04

**Aspect (b)** : Isolat E11S21

**Figure 12** : Principaux aspects cultureux sur gélose MC.



**Aspect (c) :** Isolat E01SS01



**Aspect (d) :** Isolat E03SS02

**Figure 13 :** Principaux aspects macroscopiques sur gélose SS.

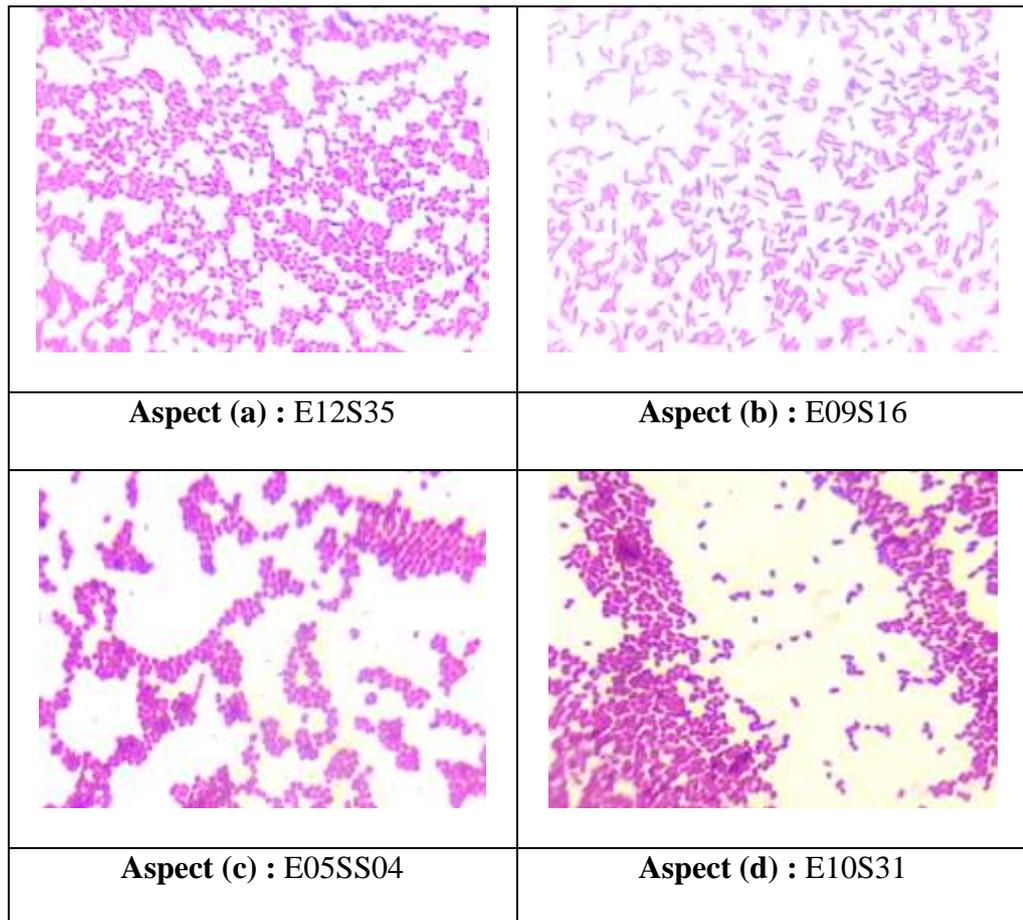


**Aspect (e) :** Isolat E10S11

**Figure 14 :** Aspect cultural sur gélose de sulfite de Bismuth.

## **2. Examen microscopique**

Différents aspects microscopiques de bacilles à Gram négatif sont observés (**figure 15**) ; on distingue généralement des coccobacilles fins ou épais (**c**), isolés (**a**) ou regroupés en paire (**d**), ainsi que des bacilles courts ou moyens (**b**), isolés ou regroupés en paires.



**Figure 15** : Quelques aspects microscopiques observés après coloration de Gram.

D'après les examens macroscopiques et microscopiques des colonies choisies, 47 isolats de BGN sont retenus.

### **3. Identification biochimique**

Parmi les 47 isolats de BGN conservés, seulement 39 ayant été identifiés, alors que 8 isolats ayant été éliminés à cause du problème de contamination au laboratoire. Les résultats des tests biochimiques réalisés sur API 20E sont reportés dans **le tableau 04**. D'après ces résultats, on distingue 8 genres et 11 espèces, parmi lesquels des BGN non fermentaires (*Pseudomonas aeruginosa* et *Aeromonas hydrophila*). Il s'agit des souches 20, 21, 37 et 38. Des exemples de quelques API relatifs aux différentes espèces sont présentés dans les **figures 16-26**.

**Tableau 04** : Résultats de l'identification biochimique par l'API 20E.

Numéro d'isolat	Test Code	Espèce	ONPG	ADH	LDC	ODC	CTT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NR
01	E02S01	<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
02	E04S04	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
03	E04S05	<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
04	E05S06	<i>Serratia odorifera</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
05	E06S07	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
06	E06S08	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
07	E06S09	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
08	E07S10	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
09	E08S13	<i>Escherichia coli 1</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
10	E09S15	<i>Salmonella enterica subsp. Arizonae</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+

Tableau 04 (suite)

Numéro d'isolat	Test Code	Espèce	ONPG	ADH	LDC	ODC	CTT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NR
11	E09S16	<i>Citrobacter braakii</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
12	E09S17	<i>Citrobacter braakii</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
13	E11S19	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	E11S21	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
15	E11S23	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
16	E12S24	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
17	E12S25	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
18	E12S26	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
19	E13S27	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
20	E13S28	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
21	E13S29	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-

Tableau 04 (suite)

Numéro d'isolat	Test Code	Espèce	ONPG	ADH	LDC	ODC	CTT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NR
			22	E09S30	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
23	E10S31	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
24	E10S32	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
25	E12S33	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
26	E12S34	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
27	E12S35	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
28	E03SS02	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	E03SS03	<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	E05SS04	<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
31	E06SS05	<i>Citrobacter braakii</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
32	E07SS06	<i>Escherichia coli 1</i>	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+

Tableau 04 (suite)

Numéro d'isolat	Test Code	Espèce	ONPG	ADH	LDC	ODC	CTT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NR
33	E08SS07	<i>Salmonella spp</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
34	E09SS08	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
35	E09SS09	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36	E10SS11	<i>Serratia odorifera</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
37	E10SS13	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
38	E10SS14	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
39	E13SS15	<i>Citrobacter braakii</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+



Figure 16 : API 20E de la souche 03 (*Serratia liquefaciens*).



Figure 17 : API 20E de la souche 04 (*Serratia odorifera*).



Figure 18 : API 20E de la souche 10 (*Salmonella enterica subsp. arizonae*).



Figure 19 : API 20E de la souche 21 (*Pseudomonas aeruginosa*).



Figure 20 : API 20E de la souche 22 (*Enterobacter cloacae*).



Figure 21 : API 20E de la souche 23 (*E. coli 1*).



Figure 22 : API 20E de la souche 28 (*Raoultella ornithinolytica*).



Figure 23 : API 20E de la souche 30 (*Citrobacter freundii*).



Figure 24 : API 20E de la souche 31 (*Citrobacter braakii*).



Figure 25 : API 20E de la souche 33 (*Salmonella* spp.).

#### 4. Répartition des souches d'entérobactéries identifiées

Parmi 39 souches identifiées, 4 souches n'ont pas été prises en compte car elles n'appartiennent pas aux entérobactéries. Donc la répartition des souches a été faite sur un total de 35.

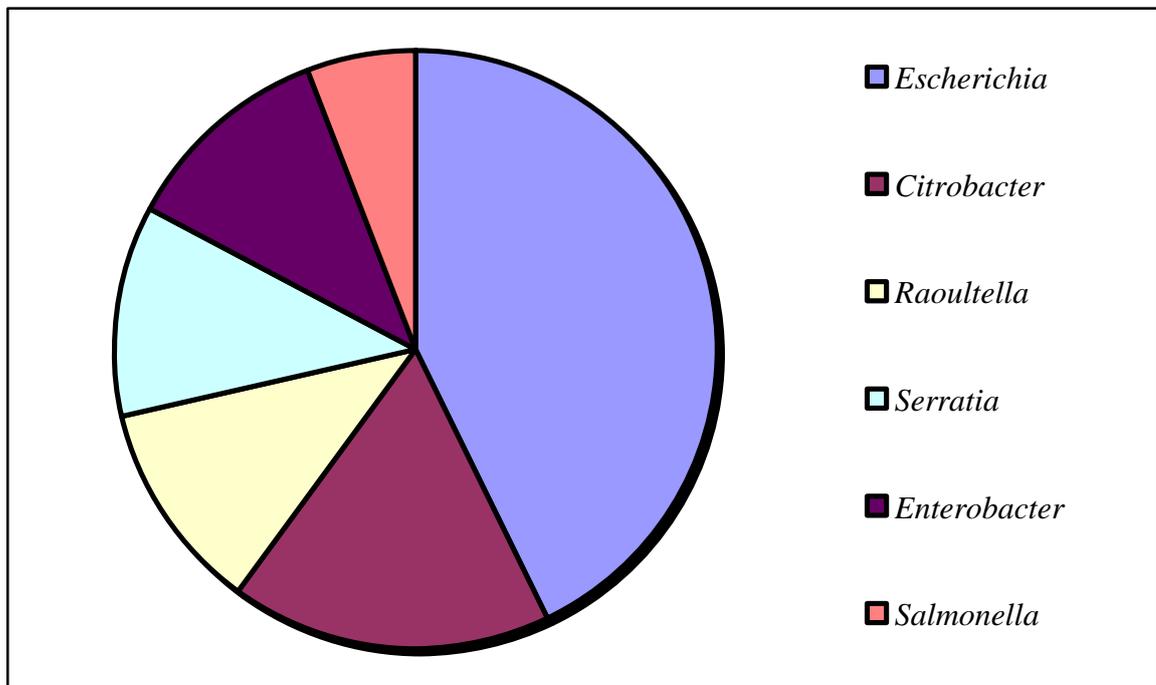
- Selon le genre

Les pourcentages des souches identifiées en fonction du genre sont détaillés dans le **tableau 05** ; cette répartition est présentée par la **figure 26**.

**Tableau 05** : Pourcentages des souches selon le genre.

Genre	Effectif	Pourcentage
<i>Escherichia</i>	15	42.86 %
<i>Citrobacter</i>	06	17.14 %
<i>Raoultella</i>	04	11.43 %
<i>Serratia</i>	04	11.43 %
<i>Enterobacter</i>	04	11.43 %
<i>Salmonella</i>	02	05.71 %
<b>Total</b>	35	100 %

D'après ces résultats, on remarque une répartition différenciée des souches identifiées entre 6 genres différents, dont le genre *Escherichia* est le plus fréquent avec un pourcentage de 42.86 %. Le genre *Citrobacter* vient en deuxième lieu avec un pourcentage de 17.14 %, tandis que les genres *Raoultella*, *Serratia* et *Enterobacter* occupent la troisième place avec un pourcentage de 11.43 %. En dernier lieu, vient le genre *Salmonella* avec un faible pourcentage de 5.71 %.



**Figure 26** : Répartition des souches en fonction du genre.

- **Selon l'espèce**

En se basant sur l'espèce, les souches identifiées ont présenté des pourcentages variables selon le **tableau 06** ; cette répartition est illustrée dans **la figure 27**.

**Tableau 06** : Pourcentages des souches selon l'espèce.

<b>Espèce</b>	<b>Effectif</b>	<b>Pourcentage</b>
<i>E.coli I</i>	15	42.86 %
<i>Citrobacter braakii</i>	04	11.43 %
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	04	11.43 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	04	11.43 %
<i>Citrobacter freundii</i>	02	5.71 %
<i>Serratia liquefaciens</i>	02	5.71 %
<i>Serratia odorifera</i>	02	5.71 %
<i>Salmonella enterica subsp. arizonae</i>	01	2.86 %
<i>Salmonella spp</i>	01	2.86 %
<b>Total</b>	35	100 %

Ces résultats montrent que les souches identifiées sont réparties différemment entre 9 espèces différentes dont l'espèce *E.coli* domine avec un taux de 42.86 %, suivie par les espèces *Citrobacter braakii*, *Raoultella ornithinolytica* et *Enterobacter cloacae* avec un taux de 11.43 % pour chacune, alors qu'en troisième lieu viennent les espèces *Citrobacter freundii*, *Serratia liquefaciens* et *Serratia odorifera* présentant chacune un pourcentage de 5.71 %. Les espèces *Salmonella enterica subsp. arizonae* et *Salmonella spp* sont les moins fréquentes avec des taux égaux (2.86 %).

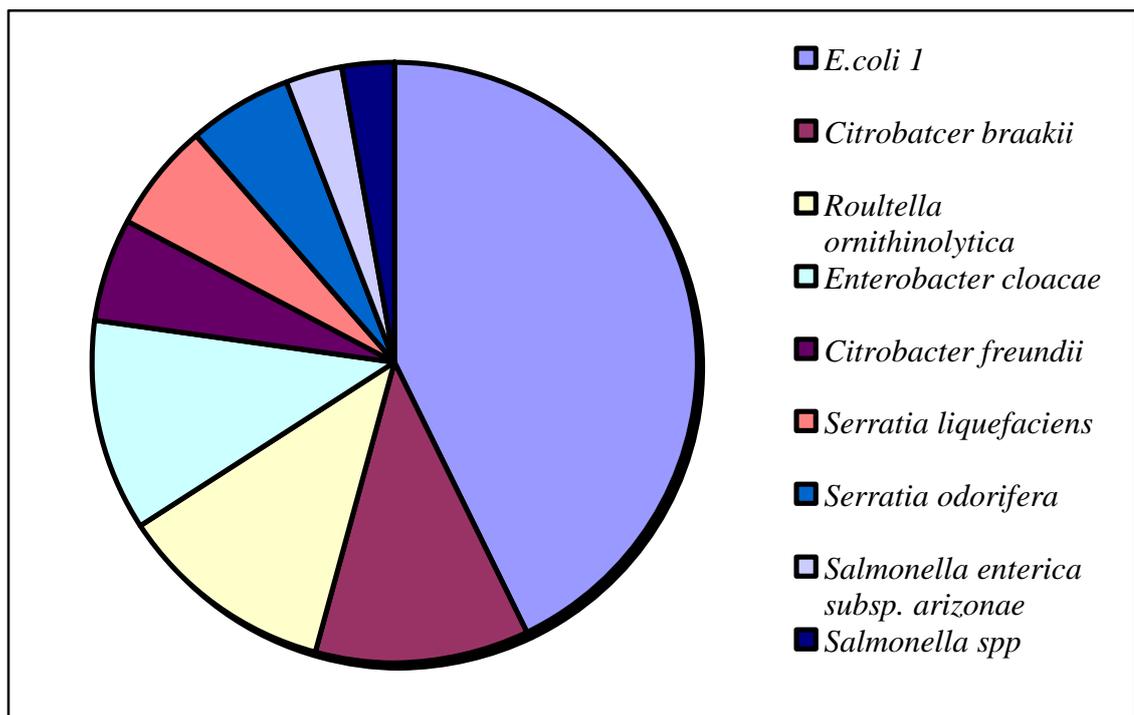


Figure 27 : Répartition des souches en fonction de l'espèce.

Concernant *E. coli*, l'espèce dominante dans notre étude, c'est une bactérie qui fait partie des hôtes commensaux du tractus digestif des volailles (Stordeur et Mainil, 2002). En conséquence, elle peut contaminer la carcasse du poulet lors de l'abattage. Ainsi, elle se trouve normalement dans l'intestin des humains (Adingra *et al.*, 2011) et elle est très abondante dans les matières fécales (Guiraud, 2003). De ce fait, elle est rencontrée aussi dans la nature (sols, eaux) après contamination fécale (Mainil, 2003), ce qui justifie son abondance dans la viande de volaille. À ce titre, *Escherichia coli* est recherché dans les aliments comme indicateur de contamination fécale ; sa présence fournit ainsi une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive (Fanny, 2011).

Bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient commensales (Fanny, 2011), et sans danger pour l'homme (Adingra, 2011), cette espèce peut être responsable d'intoxications à cause d'un développement abondant (Guiraud, 2003), certaines souches possèdent de facteurs de virulence spécifiques (Adingra, 2011) et sont associées à des pathologies intestinales ou extra-intestinales (Fanny, 2011).

*E. coli* est un indicateur des bonnes pratiques de travail et des bonnes pratiques d'hygiène, pendant le processus d'abattage et la découpe des viandes (AFSCA, 2010). De ce fait, son abondance dans notre étude témoigne d'un mode de production déficient en matière d'hygiène en général et d'une contamination fécale potentielle en particulier.

Dans notre travail, *E.coli* a été détectée dans 6 échantillons sur 13 soit 46.15 %, ce taux est beaucoup plus inférieur à celui rapporté par **Pilar Egea et al., 2012** soit 93.3% correspondant à une détection dans 14 échantillons sur 15. Ainsi, on a isolé 15 souches d' *E. coli* à partir de 12 échantillons positifs alors que **Pilar Egea et al., 2012** ont marqué 23 souches dans la viande de dinde à partir de 28 échantillons positifs différant entre escalope de poulet et viande de dinde.

Ainsi les *Citrobacter*, ces bactéries commensales de l'intestin, constituant un contaminant très courant qui n'est qu'exceptionnellement entérotoxique (diarrhée, crampes abdominales, vomissements, gastro-entérites infantiles), sont présentées dans notre étude par les espèces *Citrobacter braakii* et *Citrobacter freundii*, dont certaines souches possèdent une entérotoxine (**Guiraud, 2003**).

Quant à l'espèce *Raoultella ornithinolytica*, elle habite les milieux aquatiques (**Beye et al., 2018**) et est trouvée chez les animaux, dans le sol et les environnements botaniques (**Xiaoming et al., 2019**). De ce fait, leur présence dans nos échantillons pourrait être expliquée par une contamination d'origine environnementale. Cette bactérie a été signalée principalement dans des cas d'infections des voies biliaires et urinaires, et des bactériémies, et rarement dans des infections osseuses et articulaires (**Beye et al., 2018**) ainsi que dans certains cas d'infections gastro-intestinales (**Seng et al., 2016**).

Concernant le genre *Enterobacter*, très fréquent dans les produits alimentaires, il est présenté par l'espèce *Enterobacter cloacae* susceptible d'entraîner des intoxications (diarrhée, vomissements, douleurs abdominales, céphalées) en cas d'un développement trop abondant (**Guiraud, 2003**). En plus, cette espèce a été associée à des endémies hospitalières et des bactériémies (**Bannister et al., 1982**).

Des *Serratia* ont également été isolées dans notre étude présentées par deux espèces : *Serratia liquefaciens* et *Serratia odorifera*. Les *Serratia* sont souvent rapportées comme des agents d'infections nosocomiales (**Bollet et al., 1988**), y compris les infections des voies urinaires, de pneumonie, de méningite néonatale, etc. Pour *Serratia liquefaciens*, elle est largement répandue dans la nature (**Mossad, 2000**), rencontrée dans l'eau, le sol, le tube digestif

des rongeurs, des plantes, des insectes, des poissons et des humains (**Givskov et al., 1997**) d'où sa présence dans nos échantillons pourrait être due à une contamination d'origine environnementale ou humaine. C'est un agent pathogène opportuniste (**Givskov et al., 1997**), qui a été rapporté comme cause de mammite chez les vaches laitières (**Mossad, 2000**). *Serratia odorifera* a été rapportée dans un cas de pneumonie et de bactériémie (**Jungmin et al., 2006**) et dans certains cas de septicémies (**Cook, 1998**).

Pour le genre *Salmonella*, dont le réservoir animal constitue la principale source de danger, ainsi que l'environnement après contamination des pâturages, des sols et de l'eau par ce germe (**Anses, 2011**) ; il a été représenté par *Salmonella enterica subsp. arizonae* qui a été associé à des gastro-entérites et des infections systémiques (**Rakesh et al., 2003**), et par *Salmonella spp.*

Ces bactéries sont responsables d'un large spectre de maladies chez l'homme (**Bergeron et al., 2015**), elles constituent la cause majeure des infections du tractus digestif humain, liées à la consommation de denrées alimentaires d'origine animale (**Immerssel et al., 2005**). Elles présentent également l'une des premières causes de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), et l'agent responsable des fièvres typhoïde et paratyphoïde (**Korsak et al., 2004**).

Les salmonelles étant des bactéries dangereuses, elles ne doivent pas être présentes dans les aliments Guirau (**Guiraud, 2003**), cependant, elles ont été détectées dans notre étude avec un taux de contamination de 15.38% (dans 2 échantillons sur 13). Ce résultat est très proche de celui rapporté par **Marault et al. en 2016**, qui ont signalé un taux de contamination de 16.2% dans des carcasses de dindes d'engraissement. Néanmoins, il est inférieur à celui rapporté par **Fatou (2003)**, étant 22 % à partir des carcasses de volaille , mais dépasse largement le taux rapporté dans une étude algérienne similaire (**Kerkadene et Saadi, 2013**), qui était très faible (0.5% correspondant à un seul échantillon positif sur 200 échantillons).

Parmi les produits alimentaires d'origine animale, les viandes en constituent les plus fréquemment incriminés dans les salmonelloses. En effet, six foyers de salmonelloses humaines auxquels a été associée la viande de dinde, ont été marqués aux Etats-Unis entre 1973 et 1987 (**Nam et al., 2000**).

Concernant les BGN non fermentaires isolés de nos échantillons :

- Les *Pseudomonas* sont très répandus dans la nature. Ils constituent les principaux agents de détérioration de viande de volaille, prédominant quand elle est stockée en aérobie sous froid (Mead, 2004). Ils ne sont pas pathogènes pour l'homme, (sauf exceptions) (Guiraud, 2003). Ce genre ayant été présenté par l'espèce *P. aeruginosa* qui provoque rarement des maladies chez des hôtes normaux alors qu'elle constitue une cause majeure d'infection chez les patients présentant des affections sous-jacentes ou immunodéprimés (Planet, 2018).
- Les *Aeromonas* sont des germes aquatiques, rencontrés dans l'intestin de l'homme et des animaux, et qui peuvent contaminer divers produits y compris les viandes et les volailles (Guiraud, 2003). L'émergence de cette bactérie à partir des produits à base de viande de volaille en tant que vecteur d'infection humaine a été dernièrement rapportée. Parmi les *Aeromonas spp.* détectées sur les carcasses de volailles, *Aeromonas hydrophila* était parmi celles ayant été rapportées pour survivre après 14 jours du stockage de produit (Rouger, 2017). Cette espèce produit deux entérotoxines, deux hémolysines et une cytotoxine (Guiraud, 2003).

Enfin, on remarque que les espèces discutées ci-dessus ont pour origine soit l'animal lui-même, en particulier son tractus digestif le plus souvent (**contamination endogène**), soit l'environnement (**contamination exogène**). Ces espèces sont des pathogènes stricts (*Salmonella*) ou des pathogènes opportunistes pouvant être responsables de gastro-entérites.

## 5. Résistance aux antibiotiques

Parmi les 35 souches d'entérobactéries retenues après identification, deux souches (E09SS08 et E09SS09) ont été éliminées du lot à cause d'une contamination qui a eu lieu au cours des repiquages. Donc, seulement 33 souches ont été soumises au test de l'antibiogramme.

### 5.1. Résultats de l'antibiogramme

Les comportements des souches vis-à-vis des 15 antibiotiques choisis sont montrés dans le **tableau 07**. À partir de ces résultats, on a pu catégoriser, dans le même tableau, les différentes souches en ce qui concerne la multi résistance qui sera discutée ultérieurement. Quelques exemples sont illustrés dans les **figures 28-30**.

Tableau 07 : Résultats de l'antibiogramme des souches d'entérobactéries identifiées.

Espèce	Famille	β-Lactamines										Aminoglycosides		Fluoroquinolones		Triméthopri- sulfamides	Multirésistance
		ATB Code	AMX	TC	PRL	IPM	TTC	ATM	CL	CX	CTX	CAZ	AK	GEN	OF	CIP	
<i>Citrobacter freundii</i>	E02S01	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E05SS04	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	I	S	/
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	E04S04	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E11S19	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	MR
	E03SS02	R	R	R	S	R	I	R	S	R	R	S	S	R	R	R	MR
<i>Serratia liquefaciens</i>	E04S05	S	S	S	S	S	I	R	R	S	R	S	S	S	S	S	/
	E03SS03	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	R	R	S	R	MR
<i>Serratia odorifera</i>	E05S06	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	S	/
	E10SS11	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	/
<i>E.coli 1</i>	E06S07	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E06S08	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E06S09	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E08S13	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E11S21	R	R	R	S	R	R	R	S	I	R	S	S	S	S	R	/
	E11S23	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E12S24	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	MR
	E12S25	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	/
	E12S26	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E10S31	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	MR
	E10S32	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR
	E12S33	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	I	I	R	R	R	MR
	E12S34	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	MR
E12S35	R	R	R	S	R	R	R	R	I	R	S	S	R	R	S	MR	

Tableau 07 (suite)

<i>E.coli 1</i>	E07SS06	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	MR
<i>Enterobacter cloacae</i>	E07S10	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	/
	E13S27	R	R	R	S	I	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	/
	E09S30	R	S	S	S	S	S	R	R	S	I	S	S	I	S	S	/
<i>Salmonella enterica subsp. Arizonae</i>	E09S15	R	R	I	S	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	MR
<i>Salmonella spp</i>	E08SS07	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	MR
<i>Citrobacter braakii</i>	E09S16	R	S	S	S	R	R	S	R	R	R	I	I	R	R	S	/
	E09S17	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	/
	E06SS05	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	MR
	E13SS15	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	/

MR : multirésistante



Figure 28 : Antibiogramme de la souche E05S06 « *Serratia odorifera* ».



Figure 29 : Antibiogramme de la souche E02S01 « *Citrobacter freundii* ».



Figure 30 : Antibiogramme de la souche E12S26 « *E.coli 1* ».

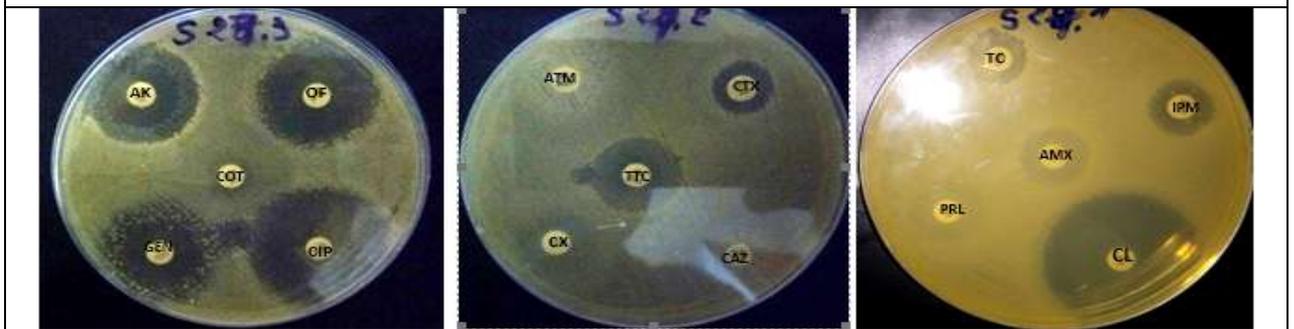


Figure 31: Antibiogramme de la souche E13S27 « *Enterobacter cloacae* ».

## 5.2. Taux des souches résistantes, sensibles et intermédiaires

D'après les résultats précédents, on a pu déterminer et évaluer les taux de résistance aux différents antibiotiques testés selon le **tableau 08** et la **figure 32**.

**Tableau 08** : Pourcentages des souches résistantes.

ATB	Effectif (%)		
	R	I	S
<b>AMX</b>	30 (90.91 %)	0 (0 %)	3 (9.09 %)
<b>TC</b>	26 (78.79 %)	1 (3.03 %)	6 (18.18 %)
<b>PRL</b>	25 (75.76 %)	1 (3.03 %)	7 (21.21 %)
<b>IPM</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	33 (100 %)
<b>TTC</b>	23 (69.70 %)	1 (3.03 %)	9 (27.27 %)
<b>ATM</b>	26 (78.79 %)	2 (6.06 %)	5 (15.15 %)
<b>CL</b>	29 (87.88 %)	0 (0 %)	4 (12.12 %)
<b>CX</b>	20 (60.61 %)	0 (0 %)	13 (39.39 %)
<b>CTX</b>	22 (66.67 %)	2 (6.06 %)	9 (27.27 %)
<b>CAZ</b>	29 (87.88 %)	1 (3.03 %)	3 (9.09 %)
<b>AK</b>	2 (6.06 %)	3 (9.09 %)	28 (84.85 %)
<b>GEN</b>	3 (9.09 %)	2 (6.06 %)	28 (84.85 %)
<b>OF</b>	25 (75.76 %)	1 (3.03 %)	7 (21.21 %)
<b>CIP</b>	21 (63.64 %)	1 (3.03 %)	11 (33.33 %)
<b>COT</b>	23 (69.70 %)	0 (0 %)	10 (30.30 %)

Le tableau ci-dessus montre que les résistances des souches sont particulièrement marquées à l'égard des antibiotiques suivants : AMX (90.91 %), CL et CAZ (87.88 % pour chacun), TC et ATM (78.79 %), PRL et OF (75.76 %), TTC et COT (69.70 %), CTX (66.67 %), CIP (63.64 %) et enfin CX (60.61 %).

À l'opposé, les antibiotiques les plus actifs sur les souches d'entérobactéries isolées dans notre travail sont : IPM avec une efficacité de 100 % et les aminosides AK et GEN (84.85 % pour chacun).

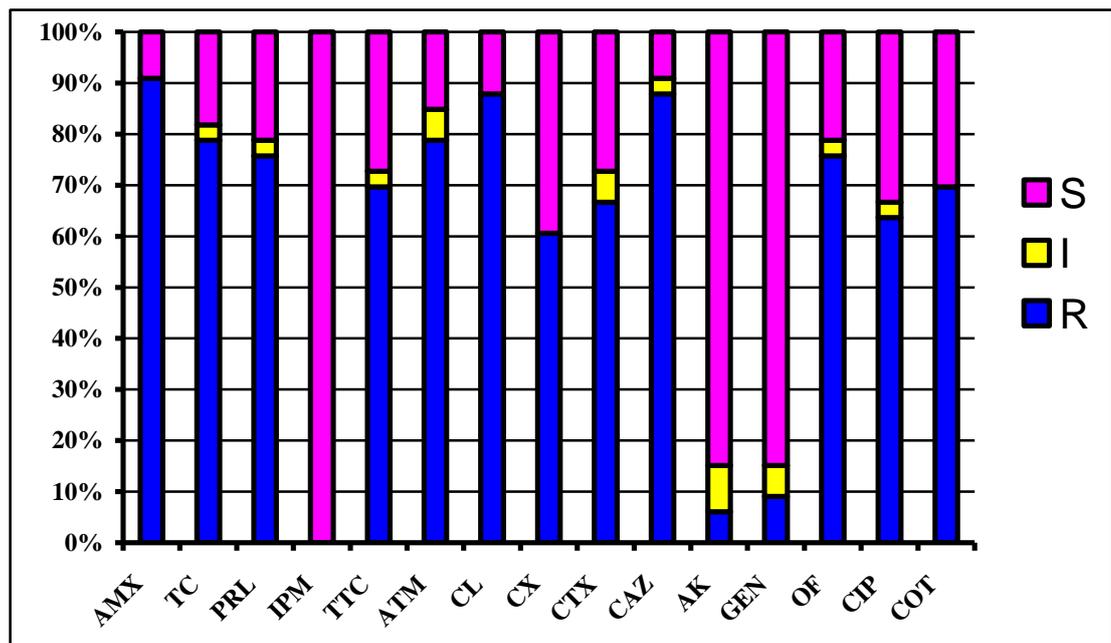


Figure 32 : Sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.

La figure 32 ci-dessus, montre que notre collection de souches présente une résistance à tous les antibiotiques testés (à part l'imipénème dont toutes les souches y sont sensibles), à des taux variables, mais généralement élevés (supérieurs à 60% pour 12 sur 15 ATB).

Quant aux aminoglycosides, de très faibles taux de résistance ont été observés à l'égard de GEN et AK, ce qui prouve leur efficacité avec IPM sur la majorité de souches d'entérobactéries étudiées par rapport aux autres bêta-lactamines, aux quinolones et aux triméthoprime-sulfamides dont des taux de résistance élevés ont été marqués.

### 5.3. Taux de résistance selon l'espèce

Afin de mieux analyser les résultats de l'antibiogramme, on a déterminé pour chaque espèce le taux des souches résistantes selon le **tableau 09**.

**Tableau 09** : Pourcentages des souches résistantes selon l'espèce.

<b>ATB</b> \ <b>Espèce</b>	<i>E. coli I</i>	<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Serratia odorifera</i>	<i>Salmonella enterica subsp. Arizonae</i>	<i>Salmonella spp.</i>
<b>AMX</b>	15 (100%)	4 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	1 (100%)	1 (100%)
<b>TC</b>	15 (100%)	3 (75%)	3 (75%)	3 (100%)	2 (67%)	0 (0%)	1 (50%)	1 (100%)	0 (0%)
<b>PRL</b>	15 (100%)	3 (75%)	3 (75%)	3 (100%)	2 (67%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (%)	0 (0%)
<b>IPM</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>TTC</b>	14 (93.33%)	2 (50%)	2 (50%)	3 (100%)	1 (33%)	0 (0%)	1 (50%)	1 (100%)	0 (0%)
<b>ATM</b>	15 (100%)	4 (100%)	4 (100%)	2 (66.67%)	2 (67%)	1 (50%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>CL</b>	15 (100%)	2 (50%)	2 (50%)	3 (100%)	3 (100%)	1 (50%)	1 (50%)	1 (100%)	1 (100%)
<b>CX</b>	7 (46.67%)	4 (100%)	4 (100%)	2 (66.67%)	2(67%)	1 (50%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)
<b>CTX</b>	12 (80%)	3 (75%)	3 (75%)	3 (100%)	2(67%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>CAZ</b>	15 (100%)	4 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	2(67%)	2 (100%)	1 (50%)	1 (100%)	0 (0%)

**Tableau 09 (suite)**

<b>AK</b>	2 (13.33%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>GEN</b>	1 (6.67%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (33%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>OF</b>	14 (93.33%)	2 (50%)	2 (50%)	3 (100%)	0 (0%)	1 (50%)	1 (50%)	1 (100%)	1 (100%)
<b>CIP</b>	14 (93.33%)	1 (25%)	1 (25%)	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	1 (100%)	0 (0%)
<b>COT</b>	13 (86.67%)	2 (50%)	2 (50%)	3 (100%)	1 (33%)	1 (50%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)

- Les souches d'*E.coli* ont présenté des taux de résistance très élevés vis-à-vis les bêta-lactamines (à l'exception de IPM et CX), les fluoroquinolones et les triméthoprime-sulfamides, mais des taux très faibles aux aminoglycosides.

Nos résultats diffèrent de ceux rapportés dans une étude tunisienne très récente (**Abbassi et al., 2017**) ayant noté des taux moyens de résistance à AMX, CTX, GEN et COT, de faibles taux de résistance à CAZ et CIP pour des souches d'*E.coli* isolées des volailles. Les taux mentionnés dans notre travail diffèrent également de ceux rapportés dans une étude française ayant signalé l'absence de résistances aux antibiotiques : CTX, CAZ, GEN et CIP, chez des souches isolées à partir des abattoirs (**Alpha, 2013**). De même, **Skockov et al. en 2015**, ont rapporté un taux très bas (3.5%) de résistance vis-à-vis CTX, ce qui s'oppose à nos résultats.

Les valeurs obtenues, dans notre travail, sont comparables à celles de **Blanco et al. en 1997**, qui ont marqué un taux élevé de résistance au COT (67%), mais inférieur à celui marqué dans notre étude (87%). Ainsi, ils ont noté un taux très faible avec GEN (12% contre 7% noté dans notre cas) des souches d'*E.coli* isolées du poulet. **Skockov et al. (2015)** ont également rapporté chez des souches isolées de volailles, un taux faible de résistance à GEN (10.2%) et un taux de 37.9% avec CIP, inférieur à celui obtenu dans notre étude (93.33%).

- Les souches des deux espèces (*C.braakii* et *C.freundii*) représentatives du genre *Citrobacter* ont présenté des pourcentages égaux de résistance aux différents ATB. Elles ont donné des taux de résistance importants aux bêta-lactamines, mais elles étaient toutes sensibles aux aminoglycosides, tandis que pour les fluoroquinolones, elles ont présenté un taux moyen avec OF et COT (50%) et un taux faible avec CIP (25%).
- Les souches appartenant à l'espèce *Raoultella ornithinolytica* étaient toutes résistantes à 8 ATB particulièrement aux bêta-lactamines (AMX, TC, PRL, CTX, CAZ, OF, CIP et COT), ce qui se concorde avec les résultats rapportés par **Gonçalves et al. (2018)**. Par ailleurs, **Jordan (2015)** a signalé que les espèces du genre *Raoultella* sont généralement sensibles vis-à-vis des antibiotiques ayant une efficacité contre les bactéries à Gram négatif couramment usités en thérapeutique comme les aminosides, les fluoroquinolones et le cotrimoxazole. C'est le cas, dans notre étude, pour les aminoglycosides, surtout AK

; mais ce ne l'est pas pour les fluoroquinolones et le cotrimoxazole dont toutes les souches y sont résistantes.

- En ce qui concerne *Enterobacter*, il a récemment été rapporté dans une étude algérienne que les bactéries appartenant à ce genre avaient un taux élevé de résistance aux bêta-lactamines (sauf carbapénèmes) (**Khennouchi, 2016**), ce qui correspond bien à nos résultats, où les souches d'*Enterobacter cloacae* ont marqué une résistance remarquable vis-à-vis les bêta-lactamines (à l'exception de IPM et TTC) ; ceci se concorde également avec les résultats obtenus dans une autre étude (**Boudjema, 2015**) sauf qu'un taux élevé de résistance au TTC a été noté, ce qui ne l'est pas dans notre étude. Quant aux aminoglycosides et fluoroquinolones, aucune résistance n'a été observée.
- Les bactéries appartenant au genre *Serratia* ont généralement présente des taux de résistance faibles à moyens aux bêta-lactamines. Alors que pour les aminoglycosides, les souches ont été sensibles à AK, c'est le cas pour toutes les souches des autres espèces recensées dans notre travail, sauf *E. coli*. Néanmoins, les souches de *Serratia liquefaciens* ont présente un taux moyen de résistance à GEN (50%).

Les souches de *Serratia* ont donné des taux moyens de résistance envers les fluoroquinolones, cependant, *Serratia liquefaciens* en fait l'exception avec une résistance nulle à la CIP. Ainsi, une étude libanaise (**Dabboussi et al., 2013**) a également signalé une résistance de souches de *Serratia odorifera* d'origine animale à cette famille.

Les souches de *Serratia liquefaciens* étaient résistantes aux triméthoprim-sulfamides avec un taux moyen, alors que les souches de *Serratia odorifera* y étaient sensibles, ce qui s'oppose au résultat obtenu par **Dabboussi et al. en 2013** ayant marqué une résistance des souches d'origine animale de cette espèce vis-à-vis de cette famille.

- Les salmonelles sont naturellement sensibles à toutes les bêta-lactamines testées sur les entérobactéries. Cependant les souches isolées dans notre travail ont présenté une résistance à certaines bêta-lactamines, mais elles étaient toutes sensibles à PRL, ATM, CTX et IPM.

De même, dans une étude algérienne portant sur des *Salmonella* isolées à partir du poulet de chair, une résistance à la CAZ a été signalée (**Kerkadene et Saadi, 2013**), ce qui correspond au résultat obtenu dans notre étude pour *Salmonella enterica subsp. arizonae*.

D'après le rapport de l'EFSA en 2015, aucune souche de *Salmonella spp* isolée de viande de dinde ni de dinde de chair résistait au CTX et à la CAZ ce qui concorde avec notre étude. De même pour les aminoglycosides qui étaient parfaitement actifs sur toutes les souches de *Salmonella*. Cependant, ces dernières ont toutes présenté une résistance à OF et COT.

### 5.4. Souches multirésistantes

La multirésistance aux antibiotiques caractérise les bactéries qui présentent une résistance, naturelle ou acquise, à au moins 3 classes d'antibiotiques. Les entérobactéries multirésistantes aux antibiotiques entraînent des infections échappant aux traitements de première intention et constituent alors une menace de santé publique majeure (Alix, 2015).

Selon Nam Lâm *et al.* (2000), la résistance provient du fait que les éleveurs mélangent souvent des antibiotiques aux aliments, comme produit adjuvant, et ce, sans aucune règle ni aucun contrôle. La conséquence est la sélection de nombreuses souches résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques qui peuvent contaminer les animaux et l'homme et rendre difficiles, voire impossibles, tous traitements par les antibiotiques.

Selon le tableau 07, on a pu constater que les souches correspondant aux espèces *Citrobacter freundii*, *Citrobacter braakii* et *Serratia liquefaciens* ont présenté chacune une seule souche multirésistante. Alors que toutes les souches appartenant à l'espèce *Raoultella ornithinolytica* étaient multirésistantes, de même que pour celles appartenant au genre *Salmonella* et c'est presque similaire pour celles composant l'espèce *E.coli 1* où 13 souches sur 15 étaient multirésistantes. Contrairement aux espèces *Enterobacter cloacae* et *Serratia odorifera* dont les souches n'ont présenté aucun cas de multirésistance.

Au total, 21 souches (63.64%) d'entérobactéries sur 33 isolées dans notre étude étaient multirésistantes. Abbassi *et al.*, en 2017 ont détecté un taux faible (44.2%) de souches d'*E.coli* d'origine animale multirésistantes, contrairement à ce qui est obtenu dans notre cas (86.7%). De même, Dabboussi *et al.*, en 2013 ont trouvé des bactéries multirésistantes d'origine animale, appartenant aux espèces *E.coli*, *Enterobacter cloacae* et *Serratia odorifera*, dans leurs échantillons, dont la résistance est liée à des enzymes de type bêta-lactamases.

En filière dindes de chair, 65% des souches de *Salmonella spp.* peuvent être résistantes jusqu'à cinq antibiotiques, selon Clélia, 2016. Ce dernier a prouvé que les taux de résistance sont

globalement plus élevés en filière dindes de chair qu'en autres filières aviaires. Ce constat est à relier avec la durée de vie plus longue de ces animaux, autorisant plus de souplesse dans les traitements. Par conséquent les pratiques thérapeutiques en filière dindes sont plus à risque quant à l'apparition de mutants résistants à un ou plusieurs antibiotiques (**Clélia, 2016**). Ce qui est également confirmé par **Marault et al. en 2016** pour des souches de *Salmonella* en particulier. En parallèle, nos résultats y sont en accord.

Les triméthoprimes sont utilisés en médecine contre un large spectre de bactéries, y compris certaines entérobactéries. De plus, la combinaison avec les sulfamides augmente leur efficacité. Cependant, l'utilisation de ces antimicrobiens dans l'alimentation animale, ainsi que leur utilisation de manière incontrôlée en médecine humaine, pendant une période prolongée peut entraîner la transmission de gènes codant pour la résistance à cet antibiotique (**Abbassi et al., 2017**).

Enfin, les souches multirésistantes peuvent conduire à des impasses thérapeutiques. La situation est ainsi considérée comme un problème majeur pour la santé animale et humaine (**Abbassi et al., 2017**). Néanmoins, l'imipénème reste l'antibiotique de choix aux entérobactéries, ce qui est constaté à partir de notre étude.

### 5.5. Profils d'antibiorésistance des souches testées

Les résultats d'antibiogramme obtenus permettent d'établir des profils de résistance des souches testées vis-à-vis les antibiotiques utilisés (**tableau 10**).

**Tableau 10** : Profils d'antibiorésistance des souches d'entérobactéries testées

N° de profil	Souche	Profil de résistance	Nbre d'ATB
1	E10SS11	AMX	1
2	E05SS04	CL, CX, OF	3
3	E04S05	CL, CX, CAZ	
4	E09S30	AMX, CL, CX	
5	E03SS03	ATM, CAZ, GEN, OF, COT	5
6	E08SS07	AMX, CL, CX, OF, COT	
7	E13SS15	AMX, TC, PRL, ATM, CL, CX, CAZ	7
8	E11S21	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CAZ, COT	8

**Tableau 10 (suite)**

N° de profil	Souche	Profil de résistance	Nbre d'ATB
9	E09S16	AMX, TTC, ATM, CX, CTX, CAZ, OF, CIP	
10	E07S10	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CTX, CAZ	
11	E13S27	AMX, TC, PRL, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, COT	
12	E09S15	AMX, TC, TTC, CL, CX, CAZ, OF, CIP, COT	9
13	E06SS05	AMX, TC, PRL, ATM, CX, CTX, CAZ, OF, COT	
14	E03SS02	AMX, TC, PRL, TTC, CL, CTX, CAZ, OF, CIP, COT	
15	E05S06	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CTX, CAZ, OF, CIP	10
16	E12S35	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CAZ, OF, CIP	
17	E07SS06	AMX, TC, PRL, ATM, CL, CTX, CAZ, OF, CIP, COT	
18	E09S17	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, COT	
19	E06S07	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CTX, CAZ, OF, CIP, COT	
	E06S08		
	E06S09		
	E08S13		
	E12S26		
	E10S31		
20	E12S24	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CAZ, OF, CIP, COT	11
21	E12S25	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, OF, CIP	
22	E02S01	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, OF, CIP, COT	12
	E04S04		
	E11S23		
	E12S33		
23	E11S19	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, GEN, OF, CIP, COT	13
24	E12S34	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, AK, OF, CIP, COT	
25	E10S32	AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, AK, GEN, OF, CIP, COT	14

**Nbre ATB** : nombre d'antibiotiques

Selon le tableau 10 :

- 25 profils différents d'antibiorésistance sont obtenus.
- Chaque profil diffère des autres au niveau du nombre ainsi que de types d'antibiotiques le composant.
- Le profil 1 est le seul composé par 1 seul antibiotique qui est AMX auquel est résistante la souche E10SS11 appartenant à l'espèce *Serratia odorifera*, alors que le profil 25 est composé par le plus grand nombre d'antibiotiques soit 14 étant AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, AK, GEN, OF, CIP, COT, auxquels est résistante la souche E10S32 appartenant à l'espèce *E.coli 1*.
- Certaines souches partagent les mêmes types et le même nombre d'antibiotiques auxquels elles résistent. C'est le cas de souches composant les profils 19 et 22.
- Par contre, les autres souches composant les autres profils ont le même nombre d'antibiotiques, mais pas les mêmes types.
- Certaines présentent des profils presque identiques, qui ne diffèrent qu'au niveau d'un seul type d'antibiotique. C'est le cas par exemple de souches E11S19 et E12S34 composant les profils 23 (AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, **GEN**, OF, CIP, COT) et 24 (AMX, TC, PRL, TTC, ATM, CL, CX, CTX, CAZ, **AK**, OF, CIP, COT).
- Selon **Abbassi et al., 2017**, les mécanismes de résistance aux bêta-lactamines chez *E. coli* d'origine animale sont principalement dus à des bêta lactamases à spectre étend (BLSE).
- Les taux élevés de résistance de souches d'*E coli* pourraient être expliqués par l'utilisation régulière d'antibiotiques, dans les industries aviaires, à des fins thérapeutiques ou préventives, ce qui conduit principalement à la sélection de clones résistants et, par la suite, à l'intra- et l'inter- propagation de ces clones par contamination fécale (**Abbassi et al., 2017**).
- Un transfert de la résistance aux bêta-lactamines, aux aminosides et au triméthoprim-sulfaméthoxazole pour un grand nombre de souches est affirmé par **Souna en 2011**. En effet, le transfert concerne les gènes codant les enzymes inactivant ces antibiotiques, aux plasmides de bactéries en dépourvues.

- La résistance bactérienne aux fluoroquinolones est conventionnellement attribuée à des mécanismes codés chromosomiquement, permettant l'altération des cibles spécifiques à ces antibiotiques (**Skockova *et al.*, 2015**).

# Conclusion générale

## Conclusion générale

Ce travail avait pour objectif d'évaluer la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées des viandes de dinde commercialisées dans la région de Tébessa.

Dans cette étude, 35 souches d'entérobactéries ont été isolées à partir de 13 échantillons d'escalopes de dinde. Elles appartiennent à neuf espèces, dont *Escherichia coli* est la plus prédominante avec un pourcentage de 42.86 %, suivie de *Citrobacter braakii*, *Raoultella ornithinolytica* et *Enterobacter cloacae* (11.43% chacune). Les autres espèces ont présente des pourcentages moindres, il s'agit de *Citrobacter freundii*, *Serratia liquefaciens* et *Serratia odorifera* présentant chacune 5.71 % et enfin *Salmonella enterica subsp. arizonae* et *Salmonella spp* avec des pourcentages égaux (2.86 %).

Les résultats de l'antibiogramme des souches vis-à-vis 15 antibiotiques, ont montré que l'imipénème reste l'antibiotique de choix avec une efficacité à 100%, et que les aminosides sont également efficaces mais à 84.85%. A l'opposé, des taux élevés de résistance ont été marqués à l'égard de la plupart des antibiotiques testés : AMX (90.91 %), CL et CAZ (87.88 % pour chacun), TC et ATM (78.79 %), PRL et OF (75.76 %), TTC et COT (69.70 %), CTX (66.67 %), CIP (63.64 %) et enfin CX (60.61 %). Les résultats ont également montré que les taux de résistance varient d'une espèce à l'autre et que 63.64% des souches isolées sont multirésistantes.

Cette étude préliminaire permet de constater que les viandes de dinde commercialisées dans notre région sont contaminées par des entérobactéries résistantes aux antibiotiques, parmi lesquelles des espèces pathogènes. Par conséquent, ces aliments peuvent contribuer à la diffusion de l'antibiorésistance via la chaîne alimentaire, comme ils pourraient être responsables de pathologies alimentaires, où des difficultés thérapeutiques seront rencontrées surtout dans le cas des souches multirésistantes.

Face à cette situation alarmante, un rationnement de l'emploi des antibiotiques par les éleveurs, ainsi que des contrôles réguliers de cet usage, doivent être mis en place par les autorités de l'État, comme première mesure dans la lutte contre les entérobactéries résistantes aux antibiotiques en filière avicole. Dans ce contexte, des stratégies importantes sont envisageables :

- Traiter de manière ciblée les seuls animaux malades, et les mettre en petits nombre pendant les soins afin d'éviter le traitement collectif de milliers de volailles en bonne santé.

- Réserver les antibiotiques de la dernière génération à la médecine humaine et les exclure de tout usage vétérinaire.

Par ailleurs, du fait de la raréfaction de la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques, des médicaments ciblant non pas les bactéries elles-mêmes mais leurs facteurs de virulence ou l'utilisation de bactériophages, pourraient constituer des solutions futures.

De plus, le suivi régulier de l'état sanitaire de l'animal et le suivi de l'hygiène du personnel à tous les maillons de la chaîne de production des viandes, l'amélioration des conditions environnementales aux alentours des industries et des abattoirs, ainsi que les systèmes de drainage et le suivi de la qualité des eaux utilisées ; sont des facteurs primordiaux dans la limitation du développement de ces bactéries, ceci participe à la prévention des maladies animales pour diminuer le besoin de recours aux antibiotiques.

Les données concernant les antibiotiques utilisés en élevage de dindes de chair et la surveillance de la résistance aux antibiotiques, sont limitées en Algérie. Nos résultats constituent dans ce cadre une ébauche méritant l'exploitation et le développement. Pour cela on propose les perspectives suivantes :

- Mener d'autres études plus larges en terme d'échantillons.
- Mettre en évidence les différents phénotypes de résistance par des tests spécifiques.
- Faire une caractérisation moléculaire de la résistance d'entérobactéries, dans le but d'en déterminer l'origine génétique.

# Références bibliographiques

### A

1. Abbassi, M.S. *et al.* (2017). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from healthy poultry, bovine and ovine in Tunisia : A Real Animal and Human Health Threat. **In** : Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology, 3(2) : 019-023.
2. Adingra, A.A ; Kouadio, A.N. et Kouassi, A.M. (2011). Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) : O157 : H7 : Un problème de santé publique. **In** : F. Tech. & Doc. Vulg. p: 22-27.
3. AFSCA, comité scientifique. (2010). ISAI 25 : *E. coli* dans les carcasses et les viandes découpées. **[en ligne]**. **In** : Le baromètre de la sécurité alimentaire, p.43-44. Disponible sur : <<http://www.afsca.be/comitescientifique/barometre/securitealimentaire/mesure.asp>>
4. Aïssatou, F. (2004). Etude de la résistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella sp.* Et *Escherichia coli* isolées de la viande de poulet de chair au Sénégal. Mémoire d'étude approfondie en productions animales. Université Cheikh Anta Diop, Dakar. 43p.
5. Alix, P. (2015). Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez *Escherichia coli* ST131. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Montpellier, Montpellier. 242p.
6. Alloui, N. (2014). Recueil des résumés. Communication présentée 3<sup>e</sup> symposium de la recherche avicole, Batna.
7. Alpha, A.D. (2013). *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Paul Sabatier, Toulouse III. p.204.
8. Anses. (2011). *Salmonella spp.* Fiche de description de danger biologique par les aliments, 4p.

### B

9. Bannister, E.R ; John, J.F et Sharbaugh, R.J. (1982). *Enterobacter cloacae* : Bacteremia, Epidemiology, and Antibiotic Resistance. **In** : Reviews of Infectious Diseases, vol 4, n°1, p.13–28. Disponible sur: < <https://doi.org/10.1093/clinids/4.1.13>>

10. Battraud, P.M. (2017). La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ?. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lille 2. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, Lille. 128p.
11. Benaissa, A. (2011). Etude de la qualité microbiologique des viandes cameline et ovine conservées selon différents modes. Mémoire de magister en biologie. Université Kasdi Merbah, Ouargla. 65p.
12. Berdell, R.F. ; Gerard, J.T. et Christine, L.C. (2012). Introduction à la microbiologie. 2<sup>e</sup> éd. France : ERPI – Le Renouveau Pédagogique Editions, p.143-144. 630p.
13. Bergeron, C. *et al.* (2015). Maladies infectieuses : Salmonellose. Prévention et contrôle des infections dans les services de garde et écoles du Québec - Guide d'intervention. La Direction des communications du ministère de la Santé et des Services sociaux, Québec, p.405-415, format PDF.
14. Beye, M. *et al.* (2018). Genomic analysis of a *Raoultella ornithinolytica* strain causing prosthetic joint infection in an immunocompetent patient. **In**: Scientific reports, 8 (1) : 9462. Doi: 10.1038/s41598-018-27833-z.  
BioMérieux SA. API 20E<sup>TM</sup>. Lyon, 2010, 9p.
15. Blais, C. (2008). Structure et tendreté de la viande. **In** : Jean-Paul Grappe. Gibier à poil et à plume. ITHQ et les Editions de l'Homme, Québec, p.1-5.
16. Blanc, M. *et al.* (1997). Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. **In** : Journal of clinical microbiology, 35 (8), p. 2184–2185.
17. Beaudoux, B. (2009). Epidémiologie et caractérisation moléculaire des souches de *Klesbsiella oxytoca* isolées en 2006-2007 au CHU de Nantes. Thèse de doctorat en médecine biologie medical. Université de Nantes, Nantes. 95p.
18. Bollet, C. *et al.* (1988). *Serratia odorifera* chez l'homme. A propos de deux cas. **In** : Médecine et Maladies Infectieuses, vol 18, n° 4, p. 233-234. Disponible sur : <  
[https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(88\)80060-X](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(88)80060-X)>.
19. Boudjemaa, D. (2015). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Abou Bekr Belkaid,

faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, département de Biologie, Tlemcen. 143p.

20. Bourgeois, C.M. ; Mescle, J.F. et Zucca, J. (1996). Microbiologie alimentaire : Tome 1, Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Paris : Tec et Doc-lavoisier. 672p.

21. Brigitte, S. (2006). Biologie-Microbiologie : Résumé de cours, exercices corrigés. Paris : Ellipses Marketing. 362p.

22. Brunel, V. *et al.* (2011). Viande de volailles : Sa valeur nutritionnelle présente bien des atouts. **In** : Viandes et produits carnés. 25 (1), 18-22.

### C

23. Cécile, O.E. *et al.* (2015). Evolution of antibiotic resistance of *Enterobacteriaceae* isolated at the Douala General Hospital from 2005 to 2012. **In** : The Pan African Medical Journal, 20 : 227.

24. Chevalier, P. (2017). *Escherichia coli* dans fiches synthèse sur l'eau potable et la santé humaine. Institut national de santé public, Québec.

25. Chougui, N. (2015). Technologie et qualité des viandes. Support de cours, Université Abderrahmane Mira de , Bejaia. 63p.

26. Clélia, M. (2016). Contribution à l'étude de l'usage des antibiotiques en filières aviaires et aux conséquences de cet usage en matière d'antibiorésistance. Thèse d'état de doctorat vétérinaire. Université Claude-Bernard-Lyon I (Médecine - Pharmacie), Lyon. 154p.

27. Cook, M. et Lopez J.J. (1998). *Serratia odorifera* biogroup I: An emerging pathogen. **In** : The journal of the American osteopathic association, vol 98, 505.

28. Cuq, J.L. (2007). Microbiologie Alimentaire. Université Montpellier II, 133p.

### D

29. Dabboussi, F. *et al.* (2013). Recherche de *Salmonella*, *Listeria* et de bactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération dans du fromage AKKAWI au nord du Liban. **In** : Lebanese Science Journal, vol 14, n° 1, p. 13-14.

**30.** Daffe, M. (2018). Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées au laboratoire Rodolphe Mérieux de 2016 à 2017. Thèse de doctorat en pharmacie. Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako, Mali. 114p.

**31.** Dembelle, A. (2018). Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches d'*Escherichia coli* isolées au laboratoire Rodolphe Merieux de 2016 à 2017 à Bamako/Mali. Thèse de doctorat en pharmacie. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, Mali. 80p.

### E

**32.** Eddayab, Y. (2012). Détection des bactéries multirésistantes au laboratoire de bactériologie du CHU de Limoges. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges. Faculté de pharmacie, Limoges. 119p.

**33.** EFSA – ECDC. (2015). The European union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014 (European Food Safety Authority - European Centre for Disease Prevention and Control). [En ligne]. Disponible sur : <<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-zoonotic-bacteria-humans-animals-food-EU-summary-report-2014.pdf>>

**34.** El bouamri, M. (2017). Etude épidémio-moléculaire des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases ) spectre élargi au CHU de Marrakech. Thèse de doctorat en biologie médicale. Université Mohammed V de rabat, Maroc. 131p.

### F

**35.** Fanny, S. (2011). Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines (STEC) dans les aliments. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de Bourgogne, Dijon. 198p.

**36.** Fatou, T. (2003). Qualité bactériologique de la viande de poulet de chair au Sénégal : Incidence des conditions d'élevage et d'abattage des volailles. Mémoire de diplôme d'études approfondies de production animales. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Faculté des sciences et techniques. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire (EISMV), Dakar, 30p.

**37.** Franz, J. (2009). Agar bismuth-sulfite selon Wilson-Blair. Merck KGaA, Allemagne.

### G

38. Givskov, M ; Eberl, L. et Molin, S. (1997). Control of exoenzyme production, motility and cell differentiation in *Serratia liquefaciens*. **In**: FEMS Microbiology Letters, vol 148, issue 2, p.115–122. Disponible sur : <<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb10276.x>>
39. Ghafir, Y. et Daube, G. (2007). Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaire d'origine animale. **In** : Annales de médecine vétérinaire, p.79-83.
40. Gonçalves, G.A.M. *et al.* (2018). *Raoultella ornithinolytica* isolation in cloacal microbiota of *Tinamus solitarius* : Preliminary Data. **In** : Brazilian Journal of Poultry Science, vol 20, n° 2. Disponible sur: <<http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2017-0599>>.
41. Guillot, J.F. (1989). Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. **In** : Annales de Recherches Vétérinaires, INRA Editions,7-8 p.
42. Guiraud, J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod. 696p.

### H

43. Hnich, H. (2017). La résistance bactérienne : Mécanismes et méthodes de détection au laboratoire. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Faculté de médecine et de pharmacie, Maroc. 148p.

### I

44. Immerseel, V.F. *et al.* (2005). *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les œufs : un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. **In** : Annales de médecine vétérinaire, 149, 34-48.

### J

45. Jill, E.M.; David, A.J.W. et Jonathan, E. (2009). **In** : Jill, E.M.; Stephen, W.P. et David B.C. Antibacterial drugs. Small Animal Clinical Pharmacology. [en ligne]. 2<sup>ème</sup> éd. Paris : Elsevier, p.148-185. Disponible sur : <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702028588500105>>
46. Joly, B. et Renaud, A. (2003). Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Paris : Tec et Doc. 356p.

47. Jordan, L. (2015). Evaluation de la spectrométrie de masse MALDI-ToF et du séquençage multi-génique pour l'identification des *Raoultella* en bactériologie médicale. Thèse de doctorat en médecine. Université de Picardie Jules Vernes UFR de médecine, Picardie. 88p.
48. Jouini, A. et al. (2010). Prevalence of broad-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates in food samples in Tunisia, and characterization of integrons and antimicrobial resistance mechanisms implicated. **In**: International Journal of Food Microbiology, 137 (6) :281-286.
49. Julie, D. (2009). Attribution des cas de salmonelloses humaines aux différentes filières de production animale en France. Thèse de doctorat en biologie et agronomie. Université européenne de Bretagne, 259p.
50. Jungmin, L. ; Carey, J. et Perlman, D.C. (2006). Pneumonia and bacteremia due to *Serratia odorifera*. **In**: Journal of infection, vol 53, n°3, p. 212-214. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2005.11.016>

### K

51. Katzung (2006). Pharmacologie fondamentale et clinique. 9<sup>e</sup> éd. Paris : Piccin. 1169p.
52. Kerkadene, S. et Saadi, F. (2013). Recherche et étude des profils de résistance des souches de *salmonella* isolées du poulet de chair des régions de Bejaia. Mémoire de master en microbiologie moléculaire et médicale. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, Bejaia. 26p.
53. Khennouchi, N.C.E.H. (2016). Evaluation de l'antibiorésistance du genre *Enterobacter* aux antibiotiques. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar, Annaba. 137p.
54. Kilani, H. et al. (2015). Occurrence of bla CTX-M-1, qnrB1 and virulence genes in avian ESBL producing *Escherichia coli* isolates from Tunisia. **In** : Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, vol 5, article 38, p.1-8. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00038.
55. Kone, K.D. (2007). Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel. Thèse de doctorat en pharmacie et d'odontomatologie. 96p.
56. Korsak, N. ; Clinquart, A. et Daub, G. (2004). *Salmonella spp.* dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique ?. [en ligne]. Formation continue : science de médecine vétérinaire. Université de liège. Belgique, p.174-176.

### L

57. Lagha, N. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat en sciences. Université Abou Bekr Belkaïd. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers. Département de biologie, Tlemcen. 84p.
58. Larry, M. ; Maria, T et Perez M. (2018). Infection par *Klebsiella*, *Enterobacter*, et *Serratia*. Le manuel MSD. [en ligne]. Disponible sur : < [http:// www.msdmanuels.com](http://www.msdmanuels.com) >.
59. Laving, J.P. *et al.* (2007). Épidémiologie clinique et moléculaire de *Citrobacter* spp. multirésistante infections dans un hôpital universitaire français. **In** : Journal européen de microbiologie clinique et des maladies infectieuses, 26 (6), 439-441.
60. Larpent, J.P. (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne : Les principaux groupes bactériens. Paris : Tec et doc, p.91-92.

### M

61. Mainardi, J.L. (2015). Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques. Communication présentée à une session interactive autour de l'antibiogramme. Unité mobile de microbiologie clinique. Service de microbiologie. Hôpital européen Georges Pompidou. Faculté et Université Paris René Descartes, Paris. [En ligne]. Disponible sur : <<http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/desc/desc2015-action-et-resistance-atb-mainardi.pdf>>
62. Mainil, J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli* : I) les adhésines et facteurs de colonisation. **In** : Annales de médecine vétérinaire, 147, 105-126.
63. Marault, M. *et al.* (2016). Surveillance programmée de la contamination par *Salmonella* spp. des viandes fraîches de volaille au stade de l'abattoir et de la résistance aux antibiotiques des souches isolées en 2014. **In** : Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation – numéro spécial- surveillance sanitaire des aliments, n°77, p.70-74.
64. Marcel, J.P. (2005). L'antibiogramme et son impact médical. **In** : Antibiotiques. [en ligne]. vol 7, n°1, p.3-72. Disponible sur : <<https://www.sciencedirect.com/journal/antibiotiques/vol/7/issue/1>>

65. Mead, G.C. (2004). Microbiological quality of poultry meat. **In** : Brazilian Journal of Poultry Science, vol 6, n°3. Disponible sur: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2004000300001>>
66. Meyer, A. ; Deiana, J. et Bernard, A. (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2<sup>e</sup> éd. Rueil-Malmaison : Doin, 430p.
67. Michael, A.K. ; Daniel, J.D. et James, J.C. (2010). How antibiotics kill bacteria : From targets to networks. **In**: Nature Reviews Microbiology, 8, p. 423–435.
68. Mossad, S.B. (2000). The world's first case of *Serratia liquefaciens* intravascular catheter-related suppurative thrombophlebitis and native valve endocarditis. **In** : Clinical microbiology and infection, vol 6, n°10, p.559-560. Disponible sur: <<https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2000.00164.x>>
69. Mortureux, M. (2009). Avis sur la mise en place d'un plan de surveillance sur les carcasses de volailles portant sur les critères indicateurs d'hygiène du procédé d'abattage. **In** : Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Saisine n° 2009-SA-0046, 13p.
70. Muylaert, A. et Mainil, J.G. (2013). Quinolones et fluoroquinolones : Des décennies de développement et d'utilisation. Le point sur les molécules vétérinaires, Partie 1 : le regard du bactériologiste. **In** : Annales de médecine vétérinaires, 157, 72-81.

### N

71. Nam L.D. *et al.* (2000). Étude bactériologique des infections par le genre *Salmonella* chez le canard dans la province de Can Tho (Viet Nam). Neuvièmes Journées de la Recherche Avicole. **In** : Revue Méd. Vêt. 151, 955-964.
72. Ndiaye, A.O. K. (2005). Les entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargi. Thèse d'état de doctorat en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie. Département de pharmacie, Dakar. 65p.

### P

73. Philippon. Les entérobactéries.[**en ligne**]. Cours de bactériologie médicale. Paris : faculté de médecine Cochin-Port-Royal, université Paris V. Disponible sur : [www.microbes-edu.org](http://www.microbes-edu.org).
74. Pilar Egea *et al.* (2012). Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the south of Spain. **In** : International Journal of Food Microbiology, 159 (2), 69-73.

**75.** Planet, J.P. (2018). *Pseudomonas aeruginosa*. Sarah S. Long, Charles G. Prober and Marc Fischer. Principles and practice of pediatric infectious diseases. 5ème éd. Elsevier, 1688p, p.866-870. Disponible sur: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00155-9>>

**76.** Ploy, M.C. et Re, S.D. (2012). Antibiotique et réponse SOS bactérienne. **In** : Médecine/sciences, 28 (2), 179-184.

### R

**77.** Rakesh, K.M. *et al.* (2003). Fatal Case of *Salmonella enterica subsp. arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. **In** : Journal of clinical microbiology, vol 41, n°12, p.5830-5832. PMID: PMC309002. PMID: 14662995. Doi: 10.1128/JCM.41.12.5830-5832.2003

**78.** Rouger, A. ; Odile, T et Zagorec, M. (2017). Bacterial Contaminants of Poultry Meat : Sources, Species, and Dynamics. **In** : Microorganisms, 5(3), 50. PMID : PMC5620641. PMID : 28841156. Doi: 10.3390/microorganisms5030050

**79.** Richard, B. *et al.* (2008). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. 133p.

**80.** Rogard, S. (2017). Recommandations 2014 de la prise en charge diagnostique et antibiotique des infections urinaires communautaires chez l'adulte : Etat des lieux des résistances bactériennes aux antibiotiques et prise en charge à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lille, Lille. 94p.

### S

**81.** Salifou, C.F.A. *et al.* (2013). Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs. **In** : International journal of biological and chemical sciences, vol 7, n°3, p.1351-1369.

**82.** Seng P. *et al.* (2016). Emerging role of *Raoultella ornithinolytica* in human infections : a series of cases and review of the literature. **In** : International journal of infectious diseases. Elsevier Inc, vol 45, p.65-71. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.02.014>

**83.** Singleton, P. (2005). Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6<sup>e</sup> édition. Paris : Dunod. 512p.

84. Skockova, A. *et al.* (2015). Characteristic and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from retail meats purchased in the Czech Republic. **In** : Food Control, 47, 401-406.

85. Souna, D. (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Mémoire de magister en biologie. Université Abou Bekr Belkaid. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers. Département de biologie, Tlemcen. 126p.

86. Stordeur, P. et Mainil J. (2002). La colibacillose aviaire. **In** : Annales de médecine vétérinaire, 146, 11-18.

### U

87. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de médecine. Service de bactériologie. Cours de bactériologie. 2002-2003. 122p. Disponible sur : <  
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>> (consulté le 15/04/2019).

### W

88. Wladimir, S. et David, T. (2003). Résistances aux  $\beta$ -lactamines. Service de Bactériologie-Hygiène -Pitié-Salpêtrière. Faculté du médecine Pierre et Marie curie. 78p.

### X

89. Xiaoming, W. *et al.* (2019). Emergence of Colistin Resistance Gene mcr-8 and Its Variant in *Raoultella ornithinolytica*. *Frontiers in Microbiology*, 10: 228. Doi: 10.3389/fmicb.2019.00228. PubMed PMID: 30828324; PubMed Central PMCID: PMC6384272.

### Z

90. Ziai, S. (2014). La résistance bactérienne aux antibiotiques : Apparition et stratégies de lutte. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges. Faculté de pharmacie, Limoges. 147p.

91. Zitouni, G. (2015). Guide d'élevage de la dinde industrielle. Département Monogastrique-Service Avicole, Institut technique des élevages, ITELV, Alger. 14p.

## Webographie

<https://www.definitions.net/definition/poultry>

# Annexes

## Classification des antibiotiques (Ndiaye, 2005 ; Eddayab, 2012)

Critère	Classification	Classes
Origine	Naturels	Pénicilline ; céphalosporine C ; streptomycine, tétracycline, chloramphénicol
	Semi-synthétiques	Bêta-lactamines
	Synthétiques	Quinolones ; sulfamides
Effet	Bactéricides	Bêta-lactamines ; aminosides ; polypeptides ; rifamycines ; nitro-imidazolés ; cotrimoxazole.
	Bactériostatiques	Phénicolés ; cyclines ; sulfamides ; triméthoprim
Spectre	A large spectre	Aminosides ; phénicolés ; cyclines ; sulfamides
	A spectre étroit	Pénicillines ; macrolides ; polymyxines ; glycopeptides
Site d'action	La paroi bactérienne	Bêta-lactamines ; glycopeptides (Vancomycine) ; phosphopeptides (Fsfomycine)
	La membrane cytoplasmique	Gramicidines ; polymyxines
	La synthèse protéique	Aminosides ; cyclines ; phénicolés ; macrolides ; lincosamides ; streptogramines ; kétolides ; cotrimoxazole ; rifamycines ; acide fusidique
	ADN	Quinolones ; imidazolés ; nitrofuranes ; sulfamides et trimétoprim ; rifamycines
	Bêta-lactamases	Acide clavulanique

## Annexe I

Nature chimique	Famille des Bêta-lactamines	<p>- <b>Les Pénames</b> composés par : les pénicillines (Péni G « Pénicilline G, extencilline » ; Péni A « Ampicilline, amoxicilline » ; Péni M « Oxacilline, méthicilline » ; Carboxypénicillines « Carbénicilline, ticarcilline » ; Uréidopénicillines « Pipéracilline, mezlocilline » ; Amidinopénicilline « Pivmécillinam, sélexid » ; les Métoxy-pénames « Témocilline » ; les Oxapénames « Acide clavulanique » ; les Carbapénames)</p> <p>- <b>Les Pénèmes</b> composés par : les Carbapénèmes (Imipénème, méropénème) ; les Sulfopénèmes ; les Oxapénèmes</p> <p>- <b>Les Céphèmes</b> comprenant : les Céphalosporines avec 4 générations (1<sup>ère</sup> génération « Céfalotine, céfazoline » ; 2<sup>ème</sup> génération « Céfuroxime, céfamandole » ; 3<sup>ème</sup> génération « Céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime », 4<sup>ème</sup> génération « Céfépime, cefpirome ») ; les Oxacéphèmes (Lamoxactam) ; les Céphamycines (Céfotétan) ; les Carbacéphèmes .</p> <p>- <b>Les Monolactames</b> comprenant : les Monobactames (Aztréonam) ; les Nocardines ; les Monophosphames ; les Monocarbames ; les Monosulfactames</p>
	Famille des Macrolides et apparentés	<p><b>Les Macrolides vrais</b> : Erythromycine, spiramycine, oléandomycine, josamycine</p> <p><b>Les Lincosamides</b> : Lincomycine, clindamycine</p> <p><b>Les Synergistines</b> : Streptogramines (A et B), pristinamycine (I et II), virginiamycine (M et S)</p> <p><b>Les Azalides</b> : Azithromycine</p> <p><b>Les Kétolides</b></p>
	Famille des Glycopeptides	Vancomycine ; Teicoplanine
	Famille des Polymyxines	Polymyxine B (Polymycine) ; polymyxine E (Cloymycine)
	Famille des Aminosides	Streptomycine B (antituberculeux) ; Nétilmycine, Gentamycine ; Kanamycine ; Tobramycine
	Famille des Cyclines	Tétracycline ; Minocycline ; Doxycycline
	Famille des Phénicolés	Chloramphénicol ; Thiamphénicol
	Famille des Sulfamides + associé	Sulfadiazine ; Cotrimoxazole (triméthoprim + sulfaméthoxazole)
	Famille des Quinolones	<p><b>1<sup>ère</sup> génération</b> : Acide nalidixique , acide pipémidique, acide oxolinique</p> <p><b>2<sup>ème</sup> génération</b> : Fluoroquinolones (fluméquine, péfloxacine, norfloxacine)</p>
	Produits nitrés	<p>Oxyquinoléines : nitroxoline</p> <p>Nitrofuranes : nitrofurantoïne</p> <p>Nitro-imidazolés : métronidazole</p>

**Milieux de culture utilisés : composition et préparation****• Gélose nutritive**

Extrait de viande.....	1 g
Extrait de levure.....	2.5 g
Peptone.....	5.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1 l

pH = 7.0

Autoclavage à 120° C pendant 20 minutes

**• Gélose Mac Conkey**

Peptone.....	20.0 g
Lactose.....	10.0 g
Sels biliaries.....	1.5 g
Cristal violet.....	0.001 g
Rouge neutre.....	0.05 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Agar.....	15.0 g
Eau distillée.....	1 l

pH = 7.1

Autoclavage à 120° C pendant 20 minutes

- **Gélose *Salmonella-Shigella* (SS)**

Peptone pancréatique de viande.....	5,0 g
Extrait de viande.....	5,0 g
Lactose.....	10,0 g
Sels biliaires.....	8,5 g
Citrate de sodium.....	10,0 g
Thiosulfate de sodium.....	8,5 g
Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
Rouge neutre.....	25,0 mg
Vert brillant.....	0,33 mg
Agar agar bactériologique.....	15,0 g
Eau distillée.....	1 l

pH = 7.0

Porter à ébullition jusqu'à dissolution mais ne pas autoclaver

- **Gélose Mueller-Hinton (MH)**

Infusion de viande de bœuf .....	300 ml
Peptone de caséine .....	17.5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	17.0 g
Eau distillée.....	1 l

pH = 7.4

Autoclavage à 120° C pendant 20 minutes

- **Gélose de sulfite de Bismuth**

Peptone.....	5,0 g
Extrait de viande de boeuf.....	5,0 g
Glucose.....	5,0 g
Phosphate disodique.....	4.0 g
Sulfate ferreux.....	0.3 g
Sulfite de bismuth (indicateur).....	8,0 g
Vert brillant.....	0,016 g
Agar.....	12.7 g
Eau distillée.....	1 l

pH =  $7.6 \pm 0.2$

Porter à ébullition jusqu'à dissolution

Laisser frémir pendant 30 secondes

Refroidir à 50-55° C

Ne pas surchauffer. Ne pas autoclaver

- **Bouillon tryptone-sel**

Tryptone.....	1 g
NaCl.....	8.5 g
Eau distillée.....	1 l

pH = 7

Autoclavage à 120° C pendant 20 minutes

- **Bouillon SFB**

Tryptone.....	5,0 g/l
Lactose.....	4,0 g/l
Phosphate disodique.....	10,0 g/l
Hydrogénosélénite de sodium.....	4,0 g/l
L-cystine.....	10 mg/l

- **Eau physiologique**

Chlorure de sodium.....	9 g
Eau distillée .....	1 l

pH = 7.0

Autoclavage à 120° C pendant 20 minutes

# Coloration de Gram

## 1. Définition

La coloration de Gram (mise au point par **Christian Gram**) est une coloration de base en bactériologie. C'est une « coloration double », qui permet de différencier les bactéries (d'après : leur forme et leur affinité pour les colorants).

## 2. But

Cette technique a pour but de déterminer le type de paroi d'une bactérie, c'est-à-dire si elle est Gram positif (+) ou Gram négatif (-).

## 3. Principe

Par la coloration différentielle de Gram, les bactéries Gram + sont colorées en violet, les bactéries Gram - sont colorées en rose, ceci étant dû à une différence de composition de la paroi.

## 4. Technique

- **Préparation du frottis**

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile en plein centre d'une lame de microscope bien propre.
- A partir d'une culture bactérienne, prélever une colonie bien isolée à l'aide d'une anse de platine stérile ou d'une pipette Pasteur stérile à pointe fermée.
- Frotter-la dans la goutte d'eau sur la lame.
- Etaler la goutte sur la lame.
- Fixer le frottis à la chaleur en effectuant des passages répétés de la lame à travers la flamme du bec Bunsen, sans dépasser 50 - 60° C (brièvement supportable à la main), jusqu'à ce qu'elle soit sèche.

- **Coloration par le violet de gentiane**

- Recouvrir la lame de violet de gentiane. Laisser agir pendant **1 minute**, puis rincer soigneusement la lame à l'eau pour éliminer l'excès du colorant.
- **Mordantage par le Lugol**
  - Inonder la lame de Lugol. Laisser agir encore **1 minute**, puis rincer encore à l'eau.
- **Décoloration par l'alcool**
  - Déposer quelques gouttes d'alcool (éthanol) sur la lame. Laisser agir **10 secondes**, puis rincer bien à l'eau.
- **Contre-coloration par la fuchsine**
  - Recouvrir la lame de fuchsine. Laisser agir 1 minute, puis rincer à l'eau.
- **Séchage**
  - Sécher la lame soigneusement entre 2 feuilles de papier buvard.

### 5. Observations

Examiner à l'**objectif x100**, à l'**immersion (avec une goutte d'huile)**, avec un éclairage important (**diaphragme ouvert**).

Noter:

- **La morphologie:** coque, bacille, coccobacille, etc.
- **La taille:** taille moyenne, petite taille, grande taille
- **Le Gram:** bactéries à Gram positif (violet) ou à Gram négatif (rose)
- **Le groupement:** en paire, en amas, en chaînettes, etc.
- **La proportion de chaque type de bactéries** (quand il y en a plusieurs...)

Tableau de lecture de la galerie API 20E (BioMérieux, 2010).

Tests	Composants actifs	Réactions-enzymes	Résultat	
			Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	2-nitrophényl- $\beta$ D-galactopyranoside	$\beta$ -galactosidase (Ortho NitroPhényl- $\beta$ D-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune (1)
<b>ADH</b>	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
<b>LDC</b>	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
<b>ODC</b>	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
<b>CIT</b>	Trisodium citrate	Utilisation du citrate	Vert pâle-jaune	Bleu-vert/bleu (3)
<b>H2S</b>	Sodium thiosulfate	Production d'H2S	Incolore - grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé (2)
<b>TDA</b>	L-tryptophane	Tryptophane Désaminase	Jaune	Marron-rougeâtre
<b>IND</b>	L-tryptophane	Production d'indole	Incolore/ vert pâle-jaune	Rose
<b>VP</b>	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne	Incolore/ rose pâle	Rose/ rouge (5)
<b>GEL</b>	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase (gélatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	D-glucose	Fermentation – oxydation (glucose)	Bleu/ bleu-vert	Jaune - jaune gris
<b>MAN</b>	D-mannitol	Fermentation - oxydation (mannitol)	Bleu/ bleu-vert	Jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation - oxydation (inositol)	Bleu/ bleu-vert	Jaune
<b>SOR</b>	D-sorbitol	Fermentation - oxydation (sorbitol)	Bleu/ bleu-vert	Jaune
<b>RHA</b>	L-rhamnose	Fermentation - oxydation (rhamnose)	Bleu/ bleu-vert	Jaune
<b>SAC</b>	D-saccharose	Fermentation – oxydation (saccharose)	Bleu/ bleu-vert	Jaune

<b>MEL</b>	D-melibiose	Fermentation - oxydation (melibiose)	Bleu/ bleu-vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation - oxydation (amygdaline)	Bleu/ bleu-vert	Jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose	Fermentation – oxydation (arabinose)	Bleu/ bleu-vert	Jaune
<b>Réduction des nitrates Tube GLU</b>	Potassium nitrate	Production de NO <sub>2</sub>	<b>NIT 1 + NIT 2</b>	
			Jaune	Rouge
		Réduction au stade N <sub>2</sub>	<b>Zn</b>	
			Orange-rouge	Jaune

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (2) Une couleur orange apparaissant après 36-48 H d'incubation doit être considérée négative.
- (3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.