

N° d'ordre : 004

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du **diplôme de Master** en
Sciences Vétérinaires

IDENTIFICATION, ET ETUDE DE PROFILE D'ANTIBIOR- ESISTANCE DES ENTEROBACTERIE ISOLEE DE QUELQUE PRODUIT ALIMENTAIRE VENDU DANS LA REGION D'ALGER

Présenté par :

Mlle : LOUNIS Amel

Mlle : Guitoune Imen Yamina

Soutenu publiquement, le 30 juin 2024 devant le jury :

Mme BAAZIZI Ratiba	MCA (ENSV)	Présidente
Mme GUESSOUM Meryem	MCB (ENSV)	Promotrice
M BAROUDI Djamel	Professeur (ENSV)	Examineur

Année universitaire 2023-2024

Remerciements

"Le succès n'est pas la clé du bonheur. Le bonheur est la clé du succès. Si vous aimez ce que vous faites, vous réussirez."

Avant tout, nous souhaitons exprimer notre reconnaissance à Allah, le Tout-Puissant, le Clément, pour nous avoir accordé la chance, la volonté et le courage nécessaires pour mener à bien ce travail. Nous sommes reconnaissantes pour ses bénédictions et nous espérons qu'il nous guidera vers de meilleurs jours à venir.

Mes remerciements les plus sincères vont à ma promotrice, Mme Guessoum. Votre expertise, votre patience et vos précieux conseils ont été indispensables tout au long de cette aventure académique. Mais au-delà de votre rôle de guide académique, vous avez été bien plus pour nous : une amie, une mère, une sœur.

Votre gentillesse et votre bienveillance ont illuminé chaque étape de ce parcours. Vous avez su nous motiver dans les moments difficiles et m'encourager à persévérer. Votre soutien moral a été inestimable, et vos encouragements constants nous ont donné la force de mener à bien ce projet. On vous est profondément reconnaissantes pour tout ce que vous avez fait pour nous.

Nos plus chaleureux remerciements vont à Dr BAAZIZI R. pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant le jury. Votre présence a grandement enrichi notre travail.

Je souhaite également adresser mes remerciements les plus sincères à notre examinateur, le Professeur BAROUDI DJ., qui a généreusement accepté de participer en tant qu'examineur de ce travail.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à Dr. DERGUINI pour ses conseils avisés .

Un merci spécial à Professeure AZZAG, responsable du laboratoire, pour sa collaboration.

Enfin, nous exprimons notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de quelque manière que ce soit à nous aider tout au long de la période de préparation de ce projet.

Dédicaces

A mes parents Kamel et Hakima, qui ont œuvré pour ma réussite, de par leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et les précieux conseils, pour toute leur assistance inconditionnelle, à la fois moral et financière, et leur présence dans ma vie ; Pour tout ce que vous avez fait pour moi, tout ce que le mot « merci » ne pourra jamais exprimer ;

À la mémoire de ma grand-mère Fatma BOUMRAR, tu me manques tellement. J'aurais tellement aimé que tu sois avec moi aujourd'hui. Je t'aime énormément et je serai toujours marqué(e) par ton amour et ton soutien indéfectibles. Que Dieu t'accueille dans son vaste paradis, où je sais que tu continues de veiller sur nous avec tendresse et bienveillance.

À mes sœurs Aya et Amira, je vous remercie pour vos encouragements constants et votre soutien moral qui ont été une source d'inspiration précieuse.

À mes chères cousines Roumaïssa, Nawel, Wissam, Rytadj, Ikram, en témoignage de mes plus profondes amitiés. Votre présence dans ma vie est un trésor que je chéris toujours.

À mes chères tantes Djouher et Malika, je tiens à vous exprimer tout mon affection et ma profonde gratitude pour votre soutien inébranlable et votre présence bienveillante dans ma vie. Je vous porte dans mon cœur et je suis extrêmement reconnaissant(e) pour tout ce que vous avez fait pour moi. Merci du fond du cœur pour votre amour sincère et votre générosité sans limite.

À mes chères amies Ryma, Ania, Cécilia, Ikram, Dina, Maria, Hadjer, je vous remercie du fond du cœur pour le bonheur que vous apportez à ma vie avec chaque sourire partagé.

À mes amis Zahir, Younes et Hilal, merci pour votre amitié sincère et votre soutien constant qui enrichissent ma vie chaque jour.

À Imane-Yamina, je vous remercie pour le courage dont vous m'avez constamment inspiré et pour les précieux moments que nous avons partagés ensemble tout au long de ce parcours. Votre générosité et votre esprit joyeux ont rendu chaque journée enrichissante et mémorable, et nous n'avons jamais passé une heure sans rire ensemble.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Amel

Dédicace

À l'âme de mon père Guitoune Charef, dont l'amour et les leçons de vie me guident chaque jour. Je dédie ce projet à ta mémoire.

À ma mère, Rahal Fatiha, ma héroïne, pour ton amour inconditionnel et tes sacrifices pour mon éducation. Merci infiniment.

À mes frères et sœurs : Ghazel, Amin, Naziha, et Yousef. Votre soutien et amour sont inestimables.

À ma chère amie Meriem et sa famille, pour votre générosité et soutien précieux.

À tous mes amis : Meriem, Sabrine, Meriem, Rihab, Amina, Ghada, Bakhta, Rayan, Asma, Hassiba, Amel, Wissal, Nesrine, Rania, Maria, pour votre soutien indéfectible et votre amitié précieuse. Je remercie Allah pour notre belle amitié. Vous êtes toutes très chères pour moi.

À Amel et sa famille, pour leur collaboration et soutien indispensables.

À ma famille entière, pour leur amour, confiance et soutien constants.

À toute la promotion de l'ENSV 2019 et à tous ceux que j'aime et respecte.

Imen

Résumé

Les toxi-infections alimentaires sont de plus en plus aggravées par l'émergence d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques, constituant une grave menace pour la sécurité alimentaire et la santé publique. Face à ce contexte préoccupant, notre étude se propose de mieux comprendre et d'évaluer la résistance des entérobactéries aux antibiotiques dans les aliments.

L'objectif principal de notre étude est d'approfondir notre compréhension et d'évaluer la résistance des entérobactéries aux antibiotiques dans les échantillons alimentaires, en identifiant les espèces prédominantes et en analysant leurs profils de résistance.

Nos résultats mettent en lumière une diversité significative d'entérobactéries dans les échantillons alimentaires analysés. *Escherichia coli* se distingue comme l'espèce dominante (33,33%), suivie de *Proteus spp* (17,78%), *Pseudomonas* (15,56%), *Klebsiella* (13,33%) et *Enterobacter* (13,33%). Les analyses révèlent également des niveaux variables de résistance aux antibiotiques entre ces espèces, soulignant l'importance de surveiller étroitement la contamination par les entérobactéries dans l'industrie alimentaire pour prévenir les risques pour la santé publique.

Pour garantir la sécurité alimentaire et atténuer la menace de résistance aux antibiotiques, il est impératif de mettre en place des mesures de contrôle rigoureuses. Ces mesures devraient inclure une surveillance continue des entérobactéries et une adaptation proactive des protocoles de gestion des risques. En agissant ainsi, nous pouvons contribuer à préserver la santé publique mondiale et assurer la durabilité des systèmes alimentaires.

Mots-clés : aliment ; santé publique ; entérobactéries ; antibiotiques ; résistance.

ملخص

التسممات الغذائية تتفاقم بشكل متزايد بسبب ظهور مسببات الأمراض المقاومة للمضادات الحيوية، مما يشكل تهديدًا خطيرًا على سلامة الغذاء والصحة العامة. في ظل هذا السياق المقلق، تهدف دراستنا إلى فهم وتقييم مقاومة الإنْتيروبيكتيريا للمضادات الحيوية في الأطعمة. الهدف الرئيسي من دراستنا هو تعميق فهمنا وتقييم مقاومة الإنْتيروبيكتيريا للمضادات الحيوية في العينات الغذائية، من خلال تحديد الأنواع السائدة وتحليل أنماط مقاومتها. تظهر نتائجنا تنوعًا كبيرًا للإنْتيروبيكتيريا في العينات الغذائية التي تم تحليلها. تبرز الإشريكية كولي كأكثر الأنواع انتشارًا (33.33%)، تليها بروتيويس (17.78%) ، وبسودومونا (15.56%)، والكلبسيلا (13.33%)، والإنْتيروبيكتير (13.33%). تكشف التحاليل أيضًا عن مستويات متفاوتة من المقاومة للمضادات الحيوية بين هذه الأنواع، مما يبرز أهمية المراقبة الدقيقة لتلوث الإنْتيروبيكتيريا في صناعة الأغذية للوقاية من المخاطر على الصحة العامة. لضمان سلامة الغذاء وتخفيف تهديد مقاومة المضادات الحيوية، من الضروري تنفيذ إجراءات صارمة للسيطرة. ينبغي أن تشمل هذه الإجراءات مراقبة مستمرة للإنْتيروبيكتيريا وتكييف بروتوكولات إدارة المخاطر بشكل استباقي. من خلال القيام بذلك، يمكننا المساهمة في الحفاظ على

الصحة العامة العالمية وضمان استدامة النظم الغذائية

الكلمات المفتاحية: غذاء ؛ الصحة العامة إنتيروبيكتيريا؛ مضادات حيوية؛ مقاومة

Abstract

Foodborne illnesses are increasingly aggravated by the emergence of antibiotic-resistant pathogens, posing a severe threat to food safety and public health. In this concerning context, our study aims to better understand and evaluate the resistance of Enterobacteriaceae to antibiotics in food.

The main objective of our study is to deepen our understanding and evaluate the resistance of Enterobacteriaceae to antibiotics in food samples by identifying the predominant species and analyzing their resistance profiles.

Our results highlight a significant diversity of Enterobacteriaceae in the analyzed food samples. *Escherichia coli* stands out as the dominant species (33.33%), followed by *Proteus* spp (17.78%), *Pseudomonas* (15.56%), *Klebsiella* (13.33%), and *Enterobacter* (13.33%). The analyses also reveal varying levels of antibiotic resistance among these species, underscoring the importance of closely monitoring Enterobacteriaceae contamination in the food industry to prevent public health risks.

To ensure food safety and mitigate the threat of antibiotic resistance, it is imperative to implement rigorous control measures. These measures should include continuous monitoring of Enterobacteriaceae and proactive adaptation of risk management protocols. By doing so, we can help preserve global public health and ensure the sustainability of food systems.

Keywords: food; public health; Enterobacteriaceae; antibiotics; resistance.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Principaux caractères biochimiques de certaines Entérobactéries (Gadou, 2019).	7
Tableau 02 : Résistance naturelle chez les différentes espèces bactériennes (Reygaert, 2018).	
.....	19
Tableau 03 : Origine de différentes souches bactériennes	33
Tableau 04 : Aspects culturels des Entérobactéries sur les milieux sélectifs	36
Tableau 05 : Antibiotiques testés pour les Entérobactéries (Nauciel et Vildé, 2005).....	45
Tableau 06 : Nombres absolus (n) et fréquences (%) des isolats bactériens.....	51
Tableau 07 : Taux de résistance des souches d' <i>E.coli</i>	56
Tableau 08 : Taux de résistance des souches de <i>Proteus</i> species	57
Tableau 10 : Taux de résistance des souches de <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterobacter</i> et <i>Klebsiella</i>	57
Tableau 11 : Profil de multirésistance des Entérobactéries étudiées.....	61
Tableau 12 : Nombre total de résistances observées.....	62

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Estimation de la proportion des décès humains causés par la résistance aux antibiotiques en comparaison à d'autres fléaux à l'horizon 2050 (D'après Rapport O'Neill, 2016).....	16
Figure 02 :Les deux types d'antibiorésistance et ses caractéristiques (Azmoun, 2016)	18
Figure 03 : Souches bactériennes étudiés sur gélose nutritive inclinée.....	33
(Photo personnelle).....	33
Figure 04 : Revivification des souches bactériennes étudiées (photo personnelle)	35
Figure 05 : Test de catalase (photo personnelle).	38
Figure 06 : Gélose TSI	39
Figure 07 : Test de mannitol mobilité 01(-) et02 (+) avec mobilité (photo personnelle).....	40
Figure08: test ONPG (En A - . eten B +)	41
Figure 09: Test de RM.....	42
Figure 12:Test uree indole (photo personnelle).	43
Figure 13 :Technique d'ensemencement de la galerie APIS10 (photo personnelle)	44
Figure14:Exemples de milieux gélosés montrant les spectres d'inhibition de différents	48
Antibiotiques.	48
Figure15 : Calcule de diamètre d'inhibition avec le pied coulisse (photo personnelle).....	49
Figure 20 : Taux d'isolement des différentes Entérobactéries.	52
Figure 21 :Taux de résistance des souches d' <i>E.coli</i>	55
Figure 22 : Taux de résistance des souches de <i>Proteus ssp</i>	56
Figure 23:Taux de résistance des souches de <i>Pseudomonas, Enterobacter et Klebsiella</i>	59

Sommaire

Résumé	
Listes des tableaux	
Liste des figures	
Abréviation	
Introduction	1
Les Entérobactéries	2
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. Généralité sur les Entérobactéries	3
I.1. Définition des Entérobactéries	3
I.2. Caractères bactériologiques des Entérobactéries	5
I.3. Entérobactéries en médecine.....	9
II. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques	15
II.1. Résistance multiple (multirésistance)	17
II.2. Classification de l'antibiorésistance.....	18
II.3. Mécanisme biochimique de l'antibiorésistance	22
III. Pathologies à Entérobactéries en médecine humaine et vétérinaire	29
PARTIE EXPERIMENTALE.....	32
I. Matériel	32
I.1. Matériel biologique	32
I.2. Matériel non biologique.....	34
II. Méthodes	35
II.1. Re-vérification des souches conservées.....	35
II.2. Re-isolement des souches (Purification)	35
II.3. Examen macroscopique	36
II.3. Examen microscopique	36
II.4. Identification par la galerie biochimique classique et mini galerie (10S)	37
II.5. Antibiogramme.....	44
III. Résultats et Discussion	51
II.1. Résultats de l'isolement et de l'identification	51
II.2. Taux de résistance des entérobactéries aux antibiotiques.....	55
II.3. Profil demultirésistancerésistance des entérobactéries	60
II.4. Indice de Multirésistance (IMR).....	62
Conclusion.....	65
Références bibliographiques.....	67
Annexes	73

Introduction

Introduction

Les maladies d'origine alimentaire représentent une diversité de pathologies de plus en plus préoccupante sur le plan de la santé publique. Annuellement, environ 600 millions de cas de maladies alimentaires et 420 000 décès dans le monde sont imputables à la contamination des aliments par des agents pathogènes (OMS, 2022).

Cependant, l'émergence d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques dans les aliments constitue une menace supplémentaire pour la sécurité alimentaire et la santé publique (Caniça et al., 2019).

La résistance aux antibiotiques constitue un enjeu critique dans le contexte des toxi-infections alimentaires causées par les Entérobactéries. Les études récentes soulignent la persistance des défis liés aux infections à *E. coli* et *Salmonella*, en raison de l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques (Johnson et al., 2021; Garcia et al., 2022).

Ces pathogènes sont responsables de flambées de maladies d'origine alimentaire à l'échelle mondiale, mettant en évidence les lacunes dans les systèmes de contrôle et de gestion des risques sanitaires (Brown, 2020; Wilson, 2019). Ainsi, la lutte contre l'antibiorésistance est intimement liée à la prévention et à la gestion des toxi-infections alimentaires, nécessitant une approche globale et coordonnée pour garantir la sécurité alimentaire et protéger la santé publique (Smith et al., 2023).

Face à cette réalité, nous avons jugé primordial d'approfondir notre compréhension de la résistance des entérobactéries. C'est dans cette perspective que nous avons entrepris la rédaction de ce mémoire, articulé en deux volets distincts.

Le premier volet est principalement axé sur une analyse bibliographique exhaustive. Il explore les entérobactéries à travers une investigation minutieuse visant à identifier les types spécifiques d'entérobactéries présentes dans un échantillon représentatif de divers aliments.

De plus, il évalue leurs réactions à l'exposition à une variété d'antibiotiques, fournissant ainsi des données cruciales sur l'antibiorésistance.

Dans le même ordre d'idées, le second volet adopte une approche pratique. Son objectif est de rechercher, d'identifier et d'étudier l'antibiorésistance de certaines souches d'entérobactéries d'origine alimentaire conservées.

Généralités sur les Entérobactéries

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralité sur les Entérobactéries

Les toxi-infections alimentaires demeurent au cœur des préoccupations sociétales. Ces affections représentent des maladies d'origine alimentaire qui se déclenchent suite à l'ingestion d'aliments ou de boissons contaminés par des microorganismes pathogènes tels que des bactéries, des virus ou des parasites. Cette ingestion est suivie par une multiplication de ces agents dans l'organisme de l'hôte, généralement accompagnée d'une invasion des tissus et/ou de la libération de toxines (Prescott et al., 2010).

Les bactéries contaminent plusieurs produits alimentaires d'origines animales et peuvent constituer un danger pour leur qualité microbiologique. Plusieurs espèces présentent un risque sur la santé humaine causent par la suite des troubles variables (Guiraud, 1998) : Cas d'entérobactéries.

I.1. Définition des Entérobactéries

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif qui résident dans la flore intestinale des humains et des animaux. Elles ne forment pas de spores, peuvent être immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche, sont aéro-anaérobies facultatives et se développent facilement sur des milieux ordinaires (Dortet et al., 2013).

Elles donnent des colonies apigmentées lisses ou rugueuses de 1 à 3 mm de diamètre. Elles n'ont pas d'oxydase, mais ont une catalase sauf *Shigelladysenteriae* serovar 1. Elles transforment les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi *Erwinia*) et fermentent le glucose pour produire divers produits (Morales-López et al., 2019).

Comme toutes les bactéries à Gram négatif, leur paroi contient des lipopolysaccharides, dont la partie polysaccharidique contient des antigènes appelés O. Les flagelles ont des propriétés immunologiques appelées H. Certaines espèces possèdent également des antigènes capsulaires (antigènes K) de nature polysaccharidique. Ces antigènes ont tous une structure très différente (Nauciel et Vildé, 2005).

L'étude de la famille des Enterobacteriaceae a débuté en 1937 lorsque Otto RAHN a proposé le genre *Enterobacter* pour rassembler les microorganismes ayant des caractéristiques biochimiques et morphologiques similaires, parmi lesquels figuraient déjà des noms tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* ou *Shigella*.

Deux ans après cette définition, qui portait sur 112 espèces, ce nombre a été réduit à 67. Depuis environ vingt ans, les études menées par les équipes de Don Brenner et Patrick A. D. Grimont ont vu une véritable expansion de cette famille avec une multitude de nouveaux genres et espèces dénombrés (**Niang, 2003**).

L'évolution de la famille des Entérobacteriaceae :

- La famille des Entérobacteriaceae comprenait 11 genres et 26 espèces, selon Edwards et Ewing en 1972.
- En 1973, 31 genres et 139 espèces ont été caractérisés.
- En 1985, Farmer et Coll ont décrit 22 familles composées de 69 espèces et 29 entérogroupe.
- En 1997, 31 genres et 139 espèces étaient identifiés.

Les entérobactéries, selon Tortora et al., comprennent plus de 40 genres et plus de 200 espèces. Elles sont omniprésentes dans l'environnement, souvent présentes dans les matières fécales, ce qui en fait une source de contamination indirecte. Elles représentent également plus de 10 % de la flore totale de l'intestin terminal (**Guiraud, 1998**), et peuvent être retrouvées dans la cavité buccale, les voies respiratoires supérieures et les organes reproducteurs. Ces bactéries sont des habitants naturels ou des agents pathogènes du tube digestif humain et de nombreux animaux (**Moussa et Moussaoui, 2016**).

Les différences entre les nombreux genres et espèces d'entérobactéries sont souvent déterminées par des caractéristiques précises telles que la capacité à fermenter différents sucres, la production ou non de sulfure, ainsi que la présence ou l'absence d'enzymes métaboliques (**Bouskraouiet al., 2015**).

Les entérobactéries sont classées en fonction de la séquence d'ARN 5S et 16S comme suit (**Delarras, 2007**):

- Domaine :Eubacterie.
- Phylum XII:Proteobacterie.
- Classe :Gammaproteobacteria.
- Ordre des Enterobacterales.
- Familles des Enterobacteriaceae

I.2. Caractères bactériologiques des Entérobactéries

I.2.1. Caractères morphologiques

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, en forme de bâtonnets de 0,5 à 5 microns de longueur et de 0,2 à 1 micron de largeur (**Willey et al., 2017 ; Madigan et al., 2018**).

Les *Proteus* ont une grande variété de formes : ils ont des formes longues et filamenteuses ou des petits bacilles droits. Les espèces qui sont mobiles sont les plus nombreuses, ce qui est dû à la présence d'une ciliature péritriche d'autres, comme *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia pestis*, sont immobiles (**Murray et al., 2016**).

Les *Klebsiella* présentent des capsules. Les fimbriae ou les pili communs sont les facteurs d'adhésion de la plupart des espèces pathogènes pour l'homme. Elles ont un antigène commun appelé antigène de Kunitz ou ECA (enterobacterial Common antigen) (**Bakhoun, 2004**).

I.2.2. Caractères culturels

Généralement, les entérobactéries sont cultivées dans sur un milieu tel qu'une gélose ordinaire contenant des nutriments de base : des peptones, des extraits de viande et des sucres. Bien que certains milieux sont conçus pour favoriser la croissance de certaines bactéries intestinales et entraver la croissance d'autres bactéries. Par exemple, la gélose MacConkey contient des cristaux violets et des sels biliaires, qui entrave la croissance de la plupart des bactéries à Gram positif mais favorisent la croissance des entérobactéries (**Murray et al., 2016 ; Willey et al., 2017**).

Les entérobactéries prolifèrent rapidement ; Des colonies se sont formées pour la plupart des espèces Après 18-24 heures d'incubation à 35-37°C. Elles sont bombées et rondes avec un bord net, leur surface est lisse et brillante, et elles sont dites « lisses » en forme de S. Après repiquage en bouillon, les colonies S présentent un trouble uniformément présent sur toute la hauteur du tube. Une fois qu'une souche en phase S a été repiquée plusieurs fois, les colonies deviennent rugueuses, sèches, plates, aux contours irréguliers et une teinte mate. Ces formes sont appelées R "rough". Une fois qu'une souche en phase S a été repiquée plusieurs fois, la colonie devient rugueuse, sèche, plate, avec un contour irrégulier et une teinte mate. Ces formes sont connues sous le nom de R "rough". Elles produisent une culture granuleuse

après avoir été agitées et forment des agglutinats spontanés qui sédimentent. De plus, elles peuvent s'auto-agglutiner dans une suspension d'eau salée (**Joly et Reynaud, 2002**).

Les colonies de bactéries productrices de capsules, telles que *Klebsiella pneumoniae*, sont muqueuses et plus grandes que les colonies typiques (elles peuvent atteindre un diamètre de 10 mm) et ont une consistance gélatineuse. Les espèces *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* sont particulièrement mobiles, ce qui entraîne fréquemment un envahissement de la surface des milieux solides qui se propage par vagues successives et peut atteindre la totalité de la surface en 24 heures (**Bakhoun, 2004 ; Pilet et al., 1979**).

Néanmoins, il existe des entérobactéries dont la croissance est faible et dont les colonies restent très petites (colonies naines). C'est une nécessité d'un ou plusieurs facteurs de croissance. D'autres bactéries ont une croissance lente et nécessitent plusieurs jours d'incubation pour produire des colonies de taille normale, et cela s'applique à certaines espèces des genres *Shigella* et *Yersinia*. Dans ce dernier cas par exemple, une incubation d'au moins 48 heures par 37 °C est requise (**Bidet et Bingen, 2007**).

Les entérobactéries sont chimio-organotrophes et certaines sont prototrophes. Elles sont capables de synthétiser tous les éléments nécessaires à leur survie et à leur croissance en utilisant une seule source de carbone (sucre,...) et d'énergie (électrons) (**Avril et al., 2000**).

I.2.3. Caractères biochimiques

Les caractéristiques d'identification des Enterobacteriaceae sont principalement de nature "biochimiques" et incluent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose, etc.), la capacité d'utilisation du citrate comme seule source de carbone, la production d'acétoïne (ou Réaction de Voges-Proskauer), la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la capacité à réduire les nitrates en nitrite et la production d'hydrogène sulfuré ou de la formation de gaz (**Murray et al., 2016**).

L'identification se fait dans des tubes pour garantir à la fois la croissance et les réactions biochimiques. Notamment de nouvelles approches de cette méthode à travers le développement de la galerie API 20E, la première galerie développée pour les bactéries intestinales, et la création d'automates comme le MINI API (**Bébéar et al., 2006**). Les entérobactéries en laboratoire sont souvent identifiées sur la base de leurs caractéristiques biochimiques à l'aide de tests biochimiques spécifiques.

Les caractères biochimiques différentiels de certaines entérobactéries sont présentés dans le tableau 01.

Tableau 01 : Principaux caractères biochimiques de certaines Entérobactéries (Gadou, 2019).

	<i>Esc</i> <i>h</i>	<i>Citr</i> <i>o</i>	<i>Enter</i> <i>o</i>	<i>Kle</i> <i>b</i>	<i>Ser</i> <i>r</i>	<i>Sal</i> <i>m</i>	<i>Shi</i> <i>g</i>	<i>Pro</i> <i>t</i>	<i>Pro</i> <i>v</i>	<i>Yer</i> <i>s</i>	<i>Mor</i> <i>g</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+	-
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-	+
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	+

ONPG = Ortho NitroPhényl Galactoside ; VP = Voges-Proskauer ; TDA = Tryptophane désaminase ; H₂S = Hydrogène sulfureux ; Esch = Escherichia ; Citro = Citrobacter ; Entero= Enterobacter ; Kleb = Klebsiella ; Serr = Serratia ; Salm = Salmonella ; Shig = Shigella ; Prot = Proteus ; Prov = Providencia ; Yers = Yersinia ; Morg= Morganella ; (+) = positif ; (+/-) = variable ; (-) = négatif.

I.2.4. Caractères antigéniques

Les souches appartenant à une même espèce ou au même genre peuvent être classées en sérotypes grâce à l'étude des diverses caractéristiques antigéniques. Certaines entérobactéries pathogènes telles que *Salmonella*, *Shigella* et *E. coli* ont un grand intérêt épidémiologique dans la détermination des sérotypes.

Les antigènes peuvent être identifiés à l'aide de diverses méthodes, la plus courante étant l'agglutination de sérums spécifiques sur lame : la présence d'agglutination indique qu'il existe une corrélation entre le sérum utilisé et un antigène de la souche étudiée (Avril et al., 2000).

Il existe plusieurs types d'antigènes :

1. Antigène commun

Toutes les entérobactéries, sauf certaines *Erwinia*, possèdent cet antigène connu sous le nom d'« antigène de Kunitz » et a un intérêt taxonomique. En général, il se présente sous forme hapténique et n'est pas immunitaire, mais il est capable de sensibiliser les hématies. De rares souches, telles que *E. coli*O: 14, possèdent une version immunitaire (**Bouazzaet al., 2016 ; Konare, 2017**).

2. Antigène O ou somatique

Cet antigène se trouve dans la paroi bactérienne, qui est lipopolysaccharidique et possède une endotoxine bactérienne thermostable qui résiste à l'alcool ou à l'acide. Le sérum immunitaire contenant des anticorps contre l'antigène O provoque une agglutination granulaire lente qui est difficile à séparer par agitation. Dans l'eau physiologique, les souches R auto-agglutinantes perdent leur spécificité O (**Fauchere et Avril, 2002**).

3. Antigène H ou flagellaire

Certaines entérobactéries ont un flagelle appelé antigène H à leur surface. Il est créé par les gènes de phase de la bactérie et sert à classer les entérobactéries en différents sérotypes. Comme ils sont impliqués dans la motilité et la colonisation des tissus hôtes, les antigènes H jouent un rôle important dans la virulence des entérobactéries (**Kim et Gadd, 2008 ; Wilson, 2010**). Il n'est présent que chez les bactéries qui sont mobiles. La protéine flagelline constitue l'antigène H, qui est thermostable et inactivé par l'alcool. En présence d'anticorps, l'agglutination est floconneuse, lâche et facilement dissociée par agitation. En présence d'anticorps, l'agglutination est floconneuse, lâche et facilement dissociable par agitation (**Bidet et Bingen, 2007**).

4. Antigène K ou capsulaire

Le polysaccharide capsulaire appelé antigène K est présent sur la surface de certaines entérobactéries. Il est souvent associé à la virulence et à l'antibiorésistance de la bactérie. Les antigènes K protègent les Enterobacteriaceae des attaques de système immunitaire de l'hôte et capable de masquer l'antigène O. Il est présent chez *Escherichia coli*, Shigelles ou certaines Salmonelles et *Citrobacter* (comme l'antigène Vi pour la virulence de *Salmonella typhi*)

(Poole, 2005 ; Wessels *et al.*, 2018). Ce sont des antigènes solubles et thermolabiles qui sont détruits par ébullition pendant 2 heures. Les antigènes d'adhésion ou adhésines, qui sont de nature protéique, sont classés selon la présence de pili comme antigènes K (K88, K99)(Ferron, 1993).

I.3. Entérobactéries en médecine

Les entérobactéries constituent, en clinique humaine et vétérinaire, la famille à l'origine des infections les plus fréquentes et dont la mortalité est la plus élevée (Nordmann, 2011).

I.3.1. Entérobactéries pathogènes

Elles sont de 2 types :

I.3.1.1. Pathogènes opportunistes

Ce sont des bactéries présentes au niveau intestinal mais qui peuvent, à des degrés variables, devenir 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. Ce caractère est particulièrement vérifié avec l'espèce *Klebsiella pneumoniae*, hôte des voies respiratoires, il peut être responsable d'infections (Brrehil *et al.*, 2018).

I.3.1.2. Pathogènes spécifiques

Ce sont des bactéries non présentes au niveau intestinal qui dès qu'elles sont retrouvées dans l'organisme sont responsables d'infections plus ou moins graves. Comme :*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* et *Yersinia*(Brrehil *et al.*, 2018).

I.3.2. Les différents genres des entérobactéries en clinique

I.3.2.1. *Escherichia coli*

Il existe cinq espèces d'*Escherichia coli*, à savoir *E. coli*, *E. albertii*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulneris* et *E. blattae*. Cependant, l'espèce *E.coli* représente la quasi-totalité des isolats humains au sein de ce genre.Elle présente une grande variété génétique et de pouvoir pathogène.*Escherichia coli*, isolée pour la première fois par Escherich en 1885, est l'espèce bactérienne la plus étudiée par les fundamentalistes pour la recherche physiologique et génétique (Avril *et al.*,2000 ; Denis *et al.*, 2007).

Elles colonisent la plupart des animaux dès les premières heures de la naissance et sont des hôtes habituels du tube digestif, de la partie distale de l'iléon et du colon de l'homme (**Le Minor et Veron 1989**).

La présence de ces bactéries dans le sol, l'eau et/ou les aliments indiquent une contamination fécale et peut indiquer la présence d'autres bactéries ou virus digestifs (**Cristian, 2008**).

Les études épidémiologiques analytiques et la surveillance épidémiologique ont amélioré nos connaissances sur les voies et sources de transmission de leurs toxines (**Savoie, 2011**).

- La plupart des infections sont causées par la contamination des denrées alimentaires. En fait, un grand nombre d'infections à *E. coli* O157:H7 qui sont épidémiologiquement associées à la consommation de produits d'origine animale. La principale source de contamination est la viande de bœuf, qui est principalement causée par une cuisson inadéquate (**Roberts et al., 1995 ; Vernozy-Rozand et Montet 2001**).
- La consommation d'eau de boisson ou l'ingestion accidentelle d'eau lors de la baignade sont généralement associées aux épidémies d'origine hydrique (**Savoie, 2011**).
- Il a été rapporté que l'*E. coli* O157:H7 peut être transmis à l'homme par contact direct ou indirect avec des animaux de ferme ou leurs déjections, ainsi que par des cas sporadiques ou des épidémies (**Savoie, 2011**).

Les infections à *E. coli* sont de deux types : les infections qui se produisent dans le tube digestif et les infections qui se produisent en dehors du tube digestif (**CHU-PS Pitié-Salpêtrière 2003**).

La gastroentérite infantile ou la diarrhée du voyageur peuvent être causées par *E. coli* entérique ou intestinale (**Cristian, 2008**).

Il existe six pathovars entérovirulents distincts :

- Les ECEP : *Escherichia coli* entéropathogène provoque des gastro-entérites chez l'enfant. Ils ne sont ni invasifs ni toxiques, mais peuvent se fixer aux membranes des cellules intestinales et détruire les microvillosités, entraînant une diarrhée aqueuse importante mais spontanément résolutive (**Denis et al., 2007**).
- Les ECET : *E. coli* entérotoxigène est une cause fréquente de diarrhée chez les enfants des pays en développement. Ils sont aussi régulièrement responsables de la diarrhée du voyageur (**Singleton, 2005**).

- Les EIEC : Les *E. coli* entéro-invasifs, également connues sous le nom *d'Escherichia colishigella-like*, provoquent des syndromes dysentériques qui impliquent l'invasion de la muqueuse intestinale(**Site Web**).
- Les EHEC :*E. coli* entérohémorragique provoque des épidémies de diarrhée sanglante d'origine alimentaire qui peuvent compliquer le syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez les enfants en produisant des toxines Shiga.
- Les ECEA : En particulier dans les pays en développement, les enfants souffrent de diarrhées persistantes causées par *E. coli*entéroagréatif.
- Les ECAD : Sont des *E. coli* à adhésion diffuse qui provoquent des diarrhées aqueuses chez les enfants.

Les *E. coli* extradigestifs, également appelés *E. coli* extra-intestinaux, peuvent causer des infections urinaires (*E. coli* uropathogènes), des septicémies, des prostatites, des méningites... Ces germes ne produisent pas d'entérotoxines et ne provoquent pas de diarrhées (**Cristian,2008**).

I.3.2.2. Shigella ssp.

En 1888, Chantemesse et Widal ont décrit ces bactéries pour la première fois. Ils avaient prélevé des selles de patients souffrant du syndrome dysentérique.

Ce bacille a été nommé Shigella en l'honneur de Kiyoshi SHIGA, un bactériologiste japonais, qui l'a découvert en 1897. Bien qu'il faisait partie de l'espèce *Escherichia coli* sur le plan génétique, le genre Shigella a été conservé dans la taxonomie pour des raisons médicales. Les bactéries shigelles sont exclusivement humaines. Quatre « espèces » ou sous-groupes de ce genre ont chacun un ou plusieurs serotypes : le groupe A contient *S. dysenteriae* avec 15 serotypes, le groupe B contient *S. flexneri* avec 6 serotypes, le groupe C contient *S. boydii* avec 18 serotypes et le groupe D contient *S. sonnei* avec un seul serotype(**Dufour, 2005**).

S. dysenteriae type 1 ou Shiga Bacillus est l'agent causal de la dysenterie bactérienne stricto sensu. D'autres sérotypes provoquent des colites infectieuses chez les adultes et gastro-entérite chez les enfants. Shigella provoque des ulcères et une réaction inflammatoire de la muqueuse intestinale. Par conséquent, les selles sont sanglantes et le syndrome dysentérique se caractérise par la présence des leucocytes, du mucus et des fausses membranes, des douleurs abdominales, des épreintes et du ténesme. Les sites extra-intestinaux sont rares. Les infections des voies urinaires sont les moins courantes. Des formes bactériémiques, arthrites et méningites sont parfois observées (**Fauchere et Avril, 2002**).

I.3.2.3. Salmonella

Plus de 2000 espèces de bactéries font partie de ce groupe. Ce genre est divisé en cinq sous-genres, le sous-genre 1 étant le plus souvent isolé chez les humains. Les autres ont été découverts dans les animaux à sang froid. Depuis 2005, une nouvelle terminologie est utilisée à l'échelle mondiale.

Cela fait suite à des recherches moléculaires (hybridations ADN-ADN) qui ont révélé la présence de seulement deux espèces du genre *Salmonella* (*S. enterica*, l'espèce la plus grande. et *S. bongori*)(**Tindall et al., 2005**) :

- ❖ *S. enterica* elle-même est divisée en six sous-espèces : *enterica* (ancienne sous-famille I de Kauffmann), *salamae* (ancienne sous-famille II), *arizonae* (ancienne sous-famille III), *diarizonae* (ancienne sous-famille III), *houtenae* (ancienne sous-famille IV) et *indica*.
- ❖ Les espèces de Bongor et diverses sous-espèces d'*entérica* sont ensuite divisées en plusieurs sérotypes (**François, 2007**).

D'un point de vue médical, il est possible de faire la distinction entre deux grands groupes de salmonelles : les salmonelles majeures, les agents de la fièvre typhoïde et de la paratyphoïde (*S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. paratyphi C*) et tous les autres sérotypes « mineurs » qui provoquent des intoxications alimentaires, des gastro-entérites ou des infections septiques opportunistes.

I.3.2.3. Klebsiella

Les infections les plus fréquentes causées par *Klebsiella* sont les infections des voies urinaires, la pneumonie, les infections de plaies et de brûlures, ainsi que la septicémie. Les patients atteints de maladies chroniques telles que le diabète, le cancer ou les maladies cardiaques sont plus susceptibles de développer une infection à *Klebsiella*(**Pomakova et al., 2012 ; Lin et al., 2021**).

- L'une des bactéries les plus répandues est *Klebsiella pneumoniae*. Elle est responsable d'un certain nombre d'infections, y compris les infections nosocomiales, les infections pulmonaires, les infections urinaires, les infections des plaies et des brûlures, ainsi que les infections sanguines. Ce type de *Klebsiella* peut également provoquer une infection appelée pneumonie de Friedländer, caractérisée par des crachats épais et visqueux, une toux persistante et une forte fièvre.
- *Klebsiella oxytoca* : est une autre souche pathogène qui peut provoquer des infections nosocomiales, telles que des infections des voies urinaires et des infections du sang. Elle

est également liée à des infections de plaies et à des brûlures chez les patients hospitalisés (**Pomakova et al., 2012 ; Lin et al., 2021**).

I.3.2.4. Proteus- Providencia

Les bactéries *Proteus* et *Providencia* sont des hôtes naturels dans le système digestif des humains et des animaux. Cependant, certaines souches pathogènes peuvent causer diverses infections. De plus, ces bactéries ont la capacité de développer rapidement des résistances aux antibiotiques et aux antiseptiques, ce qui explique leur sélection fréquente dans le tractus gastro-intestinal des patients recevant un traitement antibiotique (**Berche et al., 1988**).

I.3.2.5. Enterobacter

Enterobacter est une famille de bactéries chimio hétérotrophes. Il est également présent dans les selles, les eaux d'égout, le sol et les produits laitiers. Son habitat est l'intestin de l'homme et des animaux. Les infections nosocomiales peuvent être causées par certaines souches d'*Enterobacter*. L'espèce la plus fréquemment isolée du genre *Enterobacter* est *Enterobacter cloacae* (**Souna, 2015**).

L'*E. cloacae* colonise généralement la flore intestinale endogène des patients hospitalisés et peut également se propager de patient à patient. Il est fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales (**Qureshi et al., 2011**). En milieu hospitalier, *E. cloacae* est une bactérie opportuniste qui provoque des infections urinaires, des bactériémies, des méningites ou des suppurations variées (**Iabadene et al., 2010**). Elle peut également causer de nombreux types d'infections telles que les abcès cérébraux, les septicémies, les plaies, les infections abdominales ou les intestins (**Farmer et al., 2007**).

Antibiorésistance des entérobactéries

II. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

La résistance aux agents antibactériens est un phénomène qui remonte à l'avènement des antibiotiques et qui a été considérablement accéléré par leur usage excessif. Dès les premières utilisations médicales des antibiotiques, certaines souches bactériennes résistantes à ces substances ont émergées.

En 1945, lors de son discours de réception du prix Nobel, Fleming avait déjà mis en garde contre l'utilisation abusive de pénicilline : « *Ceux qui abusent de la pénicilline sont moralement responsables de la mort des patients à cause de bactéries résistantes, j'espère que cette tragédie pourra être évité* » (**Chaussade, 2013**).

De nos jours, la résistance aux antibiotiques peut être considérée comme un phénomène compliqué impliquant plusieurs facteurs : l'absence de création des nouveaux produits, les changements environnementales induites par les activités humaines, l'abus et l'utilisation inadéquate des antimicrobiens ; tous ces éléments peuvent expliquer l'apparition inquiétante de ce phénomène.

Cependant, un rapport publié en mars 2018 sur la consommation planétaire d'agents antimicrobiens, indique une augmentation de 65% entre 2000 et 2018 (**Berthuin et Miras, 2022**).

En 2016, Jim O'Niell a prédit que si aucune mesure n'est prise pour enrayer cette situation, l'antibiorésistance pourrait entraîner plus de 10 millions de décès humains annuellement d'ici 2050 (**Berthuin et Miras 2022 ; Verluys, 2019**). D'une manière à ce rapport, la Banque mondiale émet des prévisions alarmantes de l'impact économique de la résistance aux antibiotiques à l'échelle mondial.

La figure ci-dessous représente Estimation de la proportion des décès humains causés par la résistance aux antibiotiques en comparaison à d'autres fléaux à l'horizon 2050.

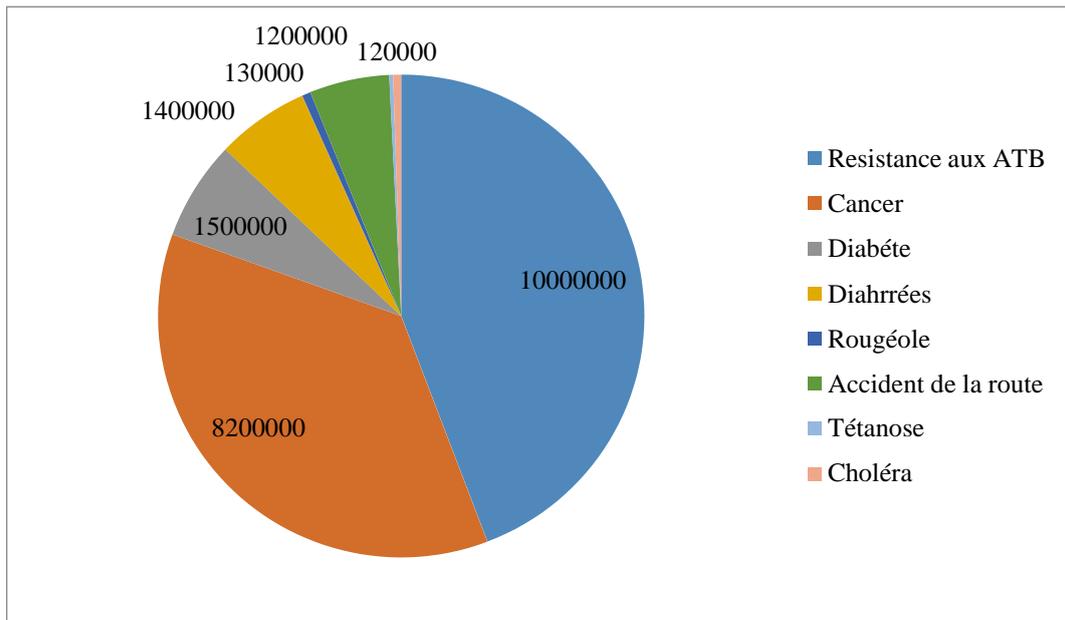


Figure 01 : Estimation de la proportion des décès humains causés par la résistance aux antibiotiques en comparaison à d'autres fléaux à l'horizon 2050 (D'après Rapport O'Neill, 2016).

Une nouvelle étude de la Banque mondiale montre que la résistance aux traitements antimicrobiens risque d'exacerber la pauvreté mondiale, avec des conséquences particulièrement graves pour les pays les plus pauvres d'ici 2050 : Le PIB annuel mondial diminuerait de 1,1 % dans le scénario « optimiste » et de 3,8 % dans le scénario le plus pessimiste, et dans ce dernier cas les pertes, des pays à faible revenu augmenteraient d'année en année, pour atteindre plus de 5 % du PIB. La résistance aux antibiotiques ferait basculer 28,3 millions de personnes supplémentaires dans l'extrême pauvreté dont 26,2 millions de personnes dans les pays à faible revenu. Les volumes d'exportation diminueront jusqu'à 1,1 % en 2050, et de 3,8 % dans le pire des cas. Les dépenses mondiales de santé pourraient augmenter de 300 à 1 000 milliards de dollars par an ainsi la production animale mondiale pourrait diminuer de 2,6 % à 7,5 % par an (**Banque mondiale**).

D'après L'OMS, la résistance antimicrobienne est caractérisée par la capacité d'un micro-organisme à résister à un antibiotique qui était auparavant efficace contre lui. Cela découle de la capacité des bactéries à supporter les effets des agents antimicrobiens. En fonction de domaine d'étude, l'antibiorésistance peut être décrite de manière variable (**Berthuin, Miras, 2022**).

Selon la signification microbiologique, une souche est considérée comme résistante si elle est cultivée dans des conditions où la concentration d'antibiotique est plus

élevé comparativement à d'autres souches qui sont génétiquement apparentées (Lezzar, 2017). Dans le domaine de la pharmacologie, la résistance d'une souche est définie par une concentration de l'antibiotique au site d'action inférieure à la CMI de la bactérie.

In vivo (en clinique), une bactérie est qualifiée résistante si le traitement antibiotique administré ne parvient pas à guérir l'infection. Cette aptitude à la résistance sera influencée par divers facteurs tels que la localisation de la bactérie, la posologie et la méthode d'administration et l'état immunitaire de l'individu traité (Muylaert et Mainil, 2012).

Ces définitions doivent être complétées par une autre définition génétique : se traduit par un changement dans le code génétique du micro-organisme, entraînant ainsi une altération d'un gène (Azmoun, 2016).

II.1. Résistance multiple (multirésistance)

Au sens littéral du terme, une bactérie multi-résistante (BMR) est une bactérie qui résiste à plusieurs antibiotiques. Ces bactéries sont souvent classées en trois catégories :

- ✓ **Les MDR** (multidrug resistant = bactéries multi-résistantes).
- ✓ **Les XDR** (extensively drug-resistant = bactéries hautement résistantes) qui résistent à tous les antibiotiques exceptés un ou deux.
- ✓ **Les PDR** (pan drug resistant : bactéries pan-résistantes à tous les antibiotiques).

Les bactéries ayant une résistance poly-médicamenteuse ont été définies de différentes manières. En effet, une bactérie est définie comme telle une résistance à trois familles ou plus, une résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques essentiels ou à un antibiotique spécifique.

Staphylococcus aureus résistants à la méticilline (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant (PAR) et *Entérobacter* productrices de Bétalactamase à spectre étendu (EBLSE) sont parmi les bactéries multi-résistantes les plus importantes (Coustés, 2016).

De nouveaux BMR apparaissent et se généralisent depuis plusieurs années, mais contrairement aux BMR « classiques », ceux-ci ont acquis des niveaux de résistance plus élevés. Elles ont été identifiées comme des bactéries émergentes hautement résistantes BHR. Deux types de bactéries ont été identifiés comme BHR :

- Entérocoques résistants aux glycopeptides ou ERG (appelés aussi entérocoques résistants à la vancomycine ou ERV) : acquisition du gène Van. Cela modifie la cible de l'antibiotique en modifiant l'acide aminé du dipeptide terminal cible D-alanyl-D-Lactate d'alanyl-D-alanyl.

- Bactéries entériques productrices de carbapénémases ou EPC: elles seront capables de synthétiser des enzymes qui inhibent les carbapénèmes, un type d'antibiotique à très large spectre considéré comme un traitement de dernier recours.

II.2. Classification de l'antibiorésistance

Sur le plan génétique, l'antibiorésistance se divise en deux catégories, la résistance naturelle ou intrinsèque et la résistance acquise (**Figure 02**).

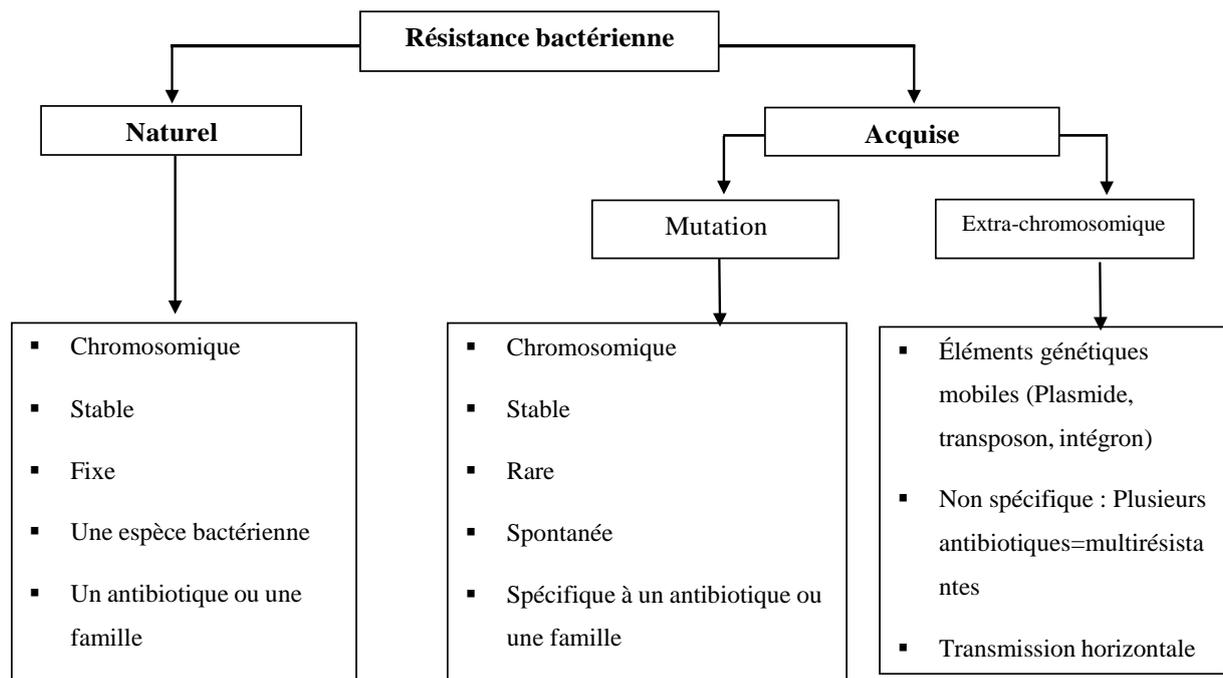


Figure 02 : Les deux types d'antibiorésistance et ses caractéristiques (Azmoun, 2016).

II.2.1. Résistance naturelle ou innée

La résistance intrinsèque est évoquée lorsque toutes les souches d'une espèce bactérienne donnée sont insensibles à l'égard de l'effet de l'antibiotique. La persistance de cette résistance est inhérente à son chromosome bactérien, elle est permanente et invariable, transmise exclusivement de manière héréditaire.

Elle représente ainsi un paramètre d'identification constant d'une espèce, ce qui permet d'une part d'évaluer la sensibilité des bactéries et d'autre part de caractériser le phénotype sauvage d'une espèce (**Ivain, 2017**). C'est peut-être à cause de (**Courvalin, 2008**) :

- L'absence de structures cibles, par exemple la paroi du mycoplasme, rend le mycoplasme insensible aux antibiotiques qui agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne.

Antibiorésistance des entérobactéries

- Les membranes de certaines bactéries sont imperméables aux divers antibiotiques. Par exemple, la résistance des bactéries Gram- aux glycopeptides, aux macrolides, aux lincosamides et aux streptogramines est due à l'incapacité de ces antibiotiques à traverser la membrane externe.
- Inactivation enzymatique des antibiotiques, par exemple production d'AmpC- β -lactamase chez certaines entérobactéries. Le tableau suivant présente des exemples de la résistance naturelle chez certaines bactéries :

Tableau 02 : Résistance naturelle chez les différentes espèces bactériennes (Reygaert, 2018).

Organismes	Résistance naturelle
<i>Bactéroides (anaérobies)</i>	Aminoglycosides, de nombreux β -lactames, quinolones
Tous les Gram positives	Aztréonam
<i>Entérocoques</i>	Aminoglycosides, céphalosporines, lincosamides
<i>Acinetobacter spp</i>	Ampicilline, glycopeptides
<i>Listeria monocytogenes</i>	Céphalosporines
Tous les Gram négatives	Glycopeptides, lipopeptides
<i>Escherichia coli</i>	Macrolides
<i>Klebsiella spp</i>	Ampicilline
<i>Serratia marcescens</i>	Macrolides
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sulfamides, ampicilline, céphalosporines de 1ère et 2ème génération, chloramphénicol, tétracycline.
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Aminoglycosides, β -lactames, carbapénèmes, quinolones

Les entérobactéries peuvent être divisées en quatre groupes selon leur résistance naturelle aux β -lactamines :

- ✓ *Salmonella, Shigella, Escherichia* Entérobactéries du groupe 1 : pas de résistance naturelle aux β -lactamines (*Proteus mirabilis, E. coli*).
- ✓ Entérobactéries du groupe 2 : Résistance par pénicillinase chromosomique (*Klebsiella Citrobacterkoseri*).
- ✓ Entérobactéries du groupe 3 : Résistance par céphalosporinase chromosomique (*Citrobacterfreundii, Enterobacter, Serratia, Morganella, Providencia, Hafnia*).
- ✓ Entérobactéries du groupe 4 : Résistance par action combinée d'une pénicillinase et d'une céphalosporinase (Mainardi, 2014).

II.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise, ne concerne que certaines souches d'une espèce bactérienne donnée. Cette résistance n'est plus considérée comme un paramètre inhérent à l'espèce mais plutôt un trait caractéristique de chaque souche.

Une ou plusieurs souches bactériennes naturellement sensibles à un antibiotique développent soudainement une résistance, en raison de modification de leur génome (Chromosomique et extra- chromosomique). Ce processus est le maître mot en matière de résistance acquise (Hajje et Kamoun, 2016 ; Muller, 2017).

II.2.2.1. Résistance chromosomique

L'acquisition du mécanisme de résistance d'origine chromosomique, résulte d'une altération génétique touchant un gène structurel ou régulateur.

Ce processus est rare (10 à 20%), survient spontanément et demeure stable dans le temps, ce qui explique sa spécificité à un antibiotique ou à une famille en particulier. Ainsi, on peut mettre en avant sa rareté, sa spécificité, son indépendance et sa transmissibilité (Mehdi, 2008).

II.2.2.2. Résistance extra-chromosomique

Quant à lui, le mécanisme d'acquisition de résistance extra-chromosomique est le plus fréquent et le plus inquiétant car il peut concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques simultanément.

Ce caractère est transmis par des éléments génétiques mobiles (MGE)(plasmide, transposon, intégrons), qui ont la capacité d'être transférées entre des bactéries de la même espèce ou de différentes espèces grâce à des mécanismes de transfert horizontal de gène (TGH) : la

transformation, la transduction et la conjugaison (**Maurin, 2018 ; Ordre National Des Pharmacies, 2022**).

1. Conjugaison

La conjugaison est un mécanisme par lequel l'information génétique est transférée grâce à la formation de machines protéiques (pili,adhésines) après l'établissement d'un contact physique entre les bactéries donneuses et receveuses.

Pour les Grams négatifs : en augmentant la surface de la cellule donneuse, qui fait office de pont vers la cellule receveuse, le contact direct entre les deux bactéries est facilité. Le plasmide se réplique pendant la conjugaison, et en même temps une seule copie simplebrin est transférée à la bactérie réceptrice, où le brin complémentaire est synthétisé. Finalement, la cellule (F-) devient (F+). Pour Gram positif(+): Dans ce cas, le mécanisme est différent, notamment pour certains genres bactériens,comme *Staphylococcus*, et le contactavec certains entérocoques ne se fait pas par les pili sexuels.

Dans le milieu extérieur ,le receveur libère des phéromones, qui sont des peptides diffusibles, qui induisent la formation de gros agrégats entre les souches bactériennes donneuses(porteuses du plasmide conjugatif) F+ et F-. Cette dernière est un site de transfert de gènes dont le mécanisme reste encore flou (**Khouaja, 2019**).

2. La transformation

La transformation est un mécanisme de capture de l'ADN par certaines espèces bactériennes. Ils peuvent présenter des conditions physiologiques au cours du cycle cellulaire : Ils'agit de l'état de compétence requis pour la fixation et l'absorption de l'ADN par ces bactéries.

La transformation nécessite la présence d'ADN libre provenant de cellules bactériennes lysées dans l'environnement. L'ADN libéré est fixé et absorbé par les bactéries réceptrices dans la phase compétente .Chez les espèces bactériennes telles que *Neisseria gonorrhoeae* et *Haemophilus influenzae*, l'efficacité de la transformation est renforcée par la présence de séquences d'ADN reconnues également présentes dans le génome (**Dutta et al, 2002**).

3. Transduction

La transduction est le transfert d'ADN bactérien à travers des bactériophages (ou phages). Ce sont des virus bactériens qui existent sous des formes virulentes ou modérées. Les phages toxiques se multiplient au sein des bactéries (ou sont répliqués par) et les lysent. Les phages tempérés s'intègrent dans le chromosome bactérien sans provoquer de réplication et se répliquent simultanément avec l'ADN bactérien. Les bactériophages sont appelés prophages et les bactéries qui les transportent sont des bactéries lysogènes. Dans les populations bactériennes lysogènes, les prophages sont occasionnellement libérés des chromosomes bactériens, deviennent très virulents et peuvent se multiplier, provoquant une lyse bactérienne et infectant de nouvelles bactéries. Le transfert de gènes bactériens par les bactériophages d'une bactérie (lysogénie) à une autre (lysogénie) peut se produire le prophage porte plusieurs gènes bactériens lors de sa libération (**Khouaja, 2019**).

II.3. Mécanisme biochimique de l'antibiorésistance

L'antibiorésistance, peut être le résultat de plusieurs mécanismes. Sur le plan biochimique, quatre mécanismes d'action sont décrits ci-dessous.

Ces derniers varient en fonction des différentes souches bactérienne (**Chaalal, 2013**). Stratégie dite « offensive » par inactivation enzymatique de l'antibiotique :

- Stratégie dite « d'évitement » par modification de la cible de l'antibiotique.
- Stratégie dite « de contournement » par shunt des voies métaboliques classique.
- Stratégie dite « d'expulsion » par diminution de la perméabilité de l'antibiotique et par accélération du mécanisme d'efflux (**Veyssiere, 2019**).

Ces différents mécanismes peuvent être isolés ou associés et c'est dans ce dernier cas de figure qu'ils vont être difficiles à contourner.

II.3.1. L'inactivation enzymatique de l'antibiotique

Les bactéries peuvent produire des enzymes visant à inactiver les antibiotiques en les modifiant ou en les hydrolysant. Cette production peut être constante ou déclenchée par des stimuli externes.

La bêta-lactamase est un exemple d'enzyme produite par des bactéries, dont le rôle est d'inactiver les bêta-lactamines (en brisant la liaison amide sur le cycle lactame). Ils'agit d'un mécanisme de résistance très efficace par transmission chromosomique ou plasmidique.

De nouvelles enzymes sont constamment découvertes. À partir des années 1990, les céphalosporines de troisième génération (C3G) ont été introduites sur le marché, mais leur surutilisation a provoqué des mutations dans le gène codant pour les β -lactamases originelles. D'autres mutations se sont ensuite produites rapidement, rendant un certain nombre de bactéries plus résistantes à des concentrations élevées de β -lactamase ou de céphalosporinase médiées par le gène de l'AMPc.

Ces enzymes bloquent l'accès au site d'action de l'antibiotique. Ces enzymes sont produites par des espèces produisant naturellement des céphalosporinases (*Entérobactéries*, *Pseudomonas*).

Après cette mutation, l'enzyme a été produite en très grande quantité. Certaines bactéries produisent également des carbapénémases, qui confèrent une résistance à toutes les bêta-lactamines, dont les carbapénèmes (Michel-Briand, 2009).

Chez les *Enterobacteriaceae*, cet important mécanisme de résistance affecte plusieurs classes d'antibiotiques, principalement les β -lactamines et les aminosides, mais aussi les quinolones et chloramphénicol (Pantel, 2016) :

❖ Résistance aux bêta-lactamines

Les entérobactéries peuvent résister aux β -lactamines en produisant des β -lactamases qui vont hydrolyser le noyau β -lactame commun à toutes les β -lactamines: des acides inertes (par exemple, l'acide pénicilloïque issu de l'hydrolyse de la pénicilline). Par conséquent, les bactéries possédant ce type d'enzyme sont résistantes à une ou plusieurs bêta-lactamines.

Il existe différents types de bêta-lactamases, qui se distinguent en fonction de leur affinité pour le cycle betalactame. Voici quelques exemples :

- ❖ La pénicillinase affecte les pénicillines et, dans certains cas, les céphalosporines de première génération (C1G).
- ❖ La céphalosporinase est active sur les céphalosporines et les pénicillines.
- ❖ La bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) consiste en une pénicillinase qui agit également sur les céphalosporines et qui fonctionne en synergie pour la différencier des céphalosporinases.
- ❖ La carbapénémase est également active sur les carbapénèmes (Albano et Moreda, 2016).

❖ Résistance aux aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la traduction de la synthèse protéique à toutes les étapes et ciblent l'ARN 16S des ribosomes bactériens. La synthèse d'enzymes modificatrices est généralement soutenue par des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons ou cassettes d'intégrons) et constitue le principal mécanisme de résistance aux aminosides chez les entérobactéries. Ces enzymes sont classées en fonction des réactions qu'elles catalysent :

- Acylation d'un groupement aminé appelé « Aminoglycoside N Acetyltransferase » (AAC).
- La phosphorylation du groupement hydroxyle appelé « Aminoglycoside O-Phosphotransferase » (APH).
- La nucléotidylation d'un groupement hydroxyle est connue sous le nom d'Aminoglycoside O-Nucleotidyltransferase (ANT) (**Pantel, 2016**).

II .3.2.Modification de la cible de l'antibiotique

Les cibles des antibiotiques peuvent être structurellement modifiées ou remplacées afin que les composés antimicrobiens ne puissent plus se lier aux bactéries et exercer leurs effets. La modification de la cible, un mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour la résistance aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram-positives et aux quinolones chez les bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

Ce type de résistance peut être le résultat de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour des enzymes qui modifient la cible antibiotique, ou il peut être le résultat de mutations dans la séquence nucléotidique de la cible. D'autre part, l'échange de cibles antibiotiques est un mécanisme qui a été décrit pour les β -lactamines, notamment les sulfamides, les Diamino pyrimidines (triméthoprime) dont le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline(SARM), ainsi que pour toutes les β -lactamines à usage vétérinaire.

Un exemple notable de synthèse d'une nouvelle PBP (pénicilline liant la protéine) à faible affinité pour la méthicilline.

Les modifications de cible peuvent être effectuées de deux manières :

- **Modifications quantitatives** : Par exemple, l'absence de paroi chez les bactéries du genre *Mycoplasma* est responsable de leur résistance naturelle aux bêta-lactamines(**Pascale, 2014**).

- **Modifications qualitatives** : La modification de la structure d'une cible peut réduire son affinité pour les antibiotiques. Il s'agit d'un mécanisme courant de résistance acquise (**Pascale, 2014**).

❖ Résistance aux β -lactamines

Cela est dû à une modification de la « protéine liant la pénicilline » du PLP. Le PLP est une enzyme qui catalyse la dernière étape de la biosynthèse des peptidoglycanes (paroi bactérienne) et est une cible des β -lactamines (en se liant au PLP, les β -lactamines empêchent la production de ces protéines). Ils sont empêchés de remplir leur mission. En conséquence, la synthèse du peptidoglycane est inhibée. Trois mécanismes peuvent être impliqués :

- Affinité réduite du PLP pour les β -lactamines (les β -lactamines sont difficiles à lier au PLP, mais sont toujours disponibles pour la synthèse des peptidoglycanes).
- Synthèse accrue des PLP existantes avec la surexpression des PLP qui ont naturellement une faible affinité pour les β -lactamines.
- Une ou plusieurs PLP insensibles aux bêta-lactamines nouvellement synthétisées (**Lozniewski et Rabaud, 2010**).

❖ Résistance aux quinolones

La résistance acquise aux quinolones est en grande partie due à des mutations chromosomiques dans les gènes codant pour leur cible intracellulaire, les topoisomérases de type II, qui est l'ADN Gyrase (constituée des sous-unités GyrA et GyrB) et ADN topoisomérase IV (ParC et ParE). Chez les entérobactéries, ces mutations affectent majoritairement le gène *gyrA* puis le gène *parC*. Ils se concentrent sur une région hautement conservée de deux gènes appelée « région déterminant la résistance aux quinolones » (QRDR). De telles modifications entraînent des changements dans les structures secondaires et tertiaires des sous-unités GyrA et ParC, entraînant une réduction de l'affinité des complexes ADN-enzyme pour les quinolones. La résistance aux quinolones est graduée et dépend du nombre de mutations détectées dans les QRDR (**Pantel, 2016**).

II .3.3. Diminution de la quantité d'antibiotique

Dans ce cas, l'antibiotique ne sera pas modifié, mais une quantité suffisante n'atteindra pas le point cible (**Veyssiere 2019**). Un mécanisme couramment utilisé par les bactéries pour réduire les effets des antibiotiques consiste à induire ou à augmenter l'expression de pompes

d'efflux de médicaments. Comme leur nom l'indique, ces protéines membranaires intégrales exportent et transportent activement des agents antimicrobiens du cytoplasme vers le milieu intracellulaire, maintenant ainsi de faibles concentrations d'antimicrobiens au sein des bactéries (**Giedraitienė et al., 2011 ; Richardson, 2017 ; Varela et al., 2021**).

Les transporteurs d'efflux d'antimicrobiens sont actuellement classés en cinq familles.

Certaines pompes à efflux favorisent sélectivement certains antibiotiques, tandis que d'autres, appelées pompes MDR (multidrogues résistance), font circuler une variété de composés structurellement distincts avec des modes d'action antimicrobiens distincts (**Lomovskaya et Watkins, 2001**).

❖ Résistance aux β -lactamines

Le système d'efflux actif est exercé par des protéines transmembranaires attachées à la membrane plasmique ainsi qu'à la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Les mutations dans les régions régulatrices des opérons d'efflux multidrogue peuvent conduire à une surexpression de systèmes d'efflux constitutifs avec ou sans perte de porines et conférer une multirésistance aux antibiotiques. L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études, notamment chez *Klebsiella pneumoniae*.

Ce type de mécanisme affecte principalement les céphalosporines de deuxième génération (**Walsh, 2003**).

II .3.4. Perméabilité réduite de l'enveloppe cellulaire

La plupart des antibiotiques doivent pénétrer dans les cellules bactériennes pour atteindre leur site cible. Les canaux poriques sont les passages par lesquels les antibiotiques traversent la membrane externe des bactéries. Les bactéries résistantes réduisent la perméabilité de la membrane interne ou externe pour empêcher la pénétration des antibiotiques. Ce mécanisme est particulièrement important chez les bactéries à Gram négatif et limite l'entrée de substances toxiques provenant du milieu extérieur, comme les β -lactamines, les tétracyclines et certaines fluoroquinolones (**Srijana, 2021**).

❖ Résistance aux β -lactamines

La pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe se produit par l'intermédiaire des porines, qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. C'est-à-dire la sensibilité aux β -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles.

Le changement mutationnel des porines conduit à une résistance acquise aux β -lactamines soit par un changement structurel significatif de la porine, comme décrit chez *E. coli*, soit par une réduction quantitative des porines, ce qui est la situation la plus courante (**Kumar et Schweizer, 2005**).

II .3.5. Autre mécanisme : « l'altruisme »

Pour protéger les bactéries sensibles et permettre l'élimination des antibiotiques, les bactéries très résistantes peuvent synthétiser de très grandes quantités d'indole. Ce composé organique a une double fonction de résistance : éliminer les antibiotiques et activer les voies métaboliques qui empêchent la synthèse de radicaux libres favorisés par les antibiotiques (**Veyssiere, 2019**).

Pathologies à Entérobactéries en médecine humaine et vétérinaire

III. Pathologies à Entérobactéries en médecine humaine et vétérinaire

La majorité de la flore commensale du tractus gastro-intestinal des humains et des mammifères (y compris ceux de compagnie) est constituée d'*Escherichia coli*. De plus, il est l'un des pathogènes les plus courants tant chez l'homme que chez l'animal provoquant une variété de maladies. Les souches pathogènes sont divisées en différents pathotypes en fonction de leurs cibles et des symptômes qu'elles peuvent provoquer (**Allocati et al., 2013**).

De plus, *E. coli* peut se propager entre l'homme et l'animal de différentes manières, telles que le contact direct, le contact avec les excréments animaux ou la chaîne alimentaire. *E. coli* provoque diverses maladies relativement similaires chez les chevaux, les bovins, les porcs, les chiens et les chats: Entérite, infection du tractus urinaire et génital, méningo-encéphalite, infections du nouveau-né, des infections mammaires (bovin et porc) et des glandes anales, avortement, septicémie des glandes anales et otite (chiens et chats) (**Poirel et al., 2018**).

Le genre bactérien *Klebsiella* fait partie du microbiome gastro-intestinal des humains et des animaux sains. Cependant, il est également considéré comme un pathogène opportuniste qui pénètre dans les muqueuses sans causer de maladie. Mais, elle peut se propager vers d'autres tissus et provoquer des infections qui peuvent mettre en danger la vie de l'individu atteint. Près d'un tiers des infections à bactéries Gram négatives dans le monde sont causées par *Klebsiella pneumoniae*, qui est responsable d'un nombre important d'infections d'origine communautaire. Les taux de mortalité et de morbidité de ces infections sont importants car c'est un pathogène qui développe des résistances et dont les options de traitement sont limitées. Les bovins et les chevaux sont plus susceptibles d'être touchés par *Klebsiella pneumoniae*, qui peut causer des infections respiratoires, urinaires et/ou génitales, des mammites et des infections du nouveau-né (**Bengoechea et Sa Pessoa, 2019**).

Salmonella enterica est l'un des pathogènes alimentaires les plus courants chez l'homme. À ce jour, plus de 2500 sérotypes ont été identifiés. Ces bactéries sont présentes dans l'environnement et se retrouvent chez les animaux domestiques et sauvages comme pathogènes ou commensaux. Ces organismes peuvent infecter les humains par le biais d'aliments contaminés comme les œufs, le poulet et le porc (crus ou insuffisamment cuits), les fruits et légumes, etc. Les symptômes d'une infection par *Salmonella spp.* chez l'homme sont principalement gastro-intestinaux (diarrhée, vomissements, douleur abdominale,...) et souvent accompagnés de fièvre (**Maca et Popowska, 2016**). Comme de nombreuses toxi-infections

Pathologies à Entérobactéries en médecine humaine et vétérinaire

alimentaires sont rapportées chaque année, cette entérobactérie est un problème majeur pour la sécurité alimentaire et la santé publique. Les mammifères et les oiseaux sont infectés par *Salmonella enterica*, dont le sérotype le plus courant est *Thyphimurium*.

Les sérotypes *Hadar* sont également présents chez les chevaux et *Dublin* chez les bovins. Une contamination par ce pathogène peut entraîner une variété de symptômes, qui ne sont pas toujours simultanés :

- Entérite (mucus, hémorragie, débris nécrotiques, etc.) Avec une diarrhée, une anorexie, un abattement, une déshydratation et une fièvre.
- Septicémie avec foyers de nécrose sur les organes internes et des atteintes ostéo-articulaires, respiratoires et nerveuses.
- Un avortement en raison d'une septicémie.

Les symptômes de la Salmonellose sont généralement identiques chez les bovins, les porcs, les chats, les chiens et les chevaux.

Le traitement des infections causées par les Enterobacteriaceae implique généralement l'administration d'antibiotiques. Il est recommandé de choisir un antibiotique en fonction de l'antibiogramme pour limiter le développement et la propagation de résistances. Mais la plupart du temps, nous utilisons des β -lactamines. Par exemple, le traitement antibiotique principal contre la salmonellose chez le chien ou le chat est l'amoxicilline ou la céphalexine, tandis que l'ampicilline chez le bovin (Mainil, 2017).

PARTIE EXPERIMENTALE | MATERIEL ET METHODES

PARTIE EXPERIMENTALE

Objectifs

Dans un contexte où la lutte contre les infections bactériennes se complexifie, l'émergence de l'antibiorésistance représente l'un des défis les plus pressants pour la santé publique. Dans cette perspective, notre étude vise à atteindre les objectifs suivants :

- Identifier les Entérobactéries présentes dans diverses denrées alimentaires.
- Évaluer leur sensibilité à différents antibiotiques afin de déterminer leurs profils d'antibiorésistance.

Lieu de travail

Les essais d'isolement, d'identification et d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries ont été réalisés dans le laboratoire de Microbiologie clinique de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV – Alger).

Durée et type d'étude

Ce travail s'est déroulé sur différentes périodes et comprend :

- Une étude rétrospective menée sur une période d'un an et trois mois, couvrant de mai 2022 à juillet 2022.
- Une étude prospective réalisée sur une période de deux mois, allant d'avril à juin 2023.

L'objectif de cette étude était d'analyser les résultats d'identification et d'antibiogramme des isolats bactériennes de la famille des *Enterobacteriaceae*, isolées à partir de diverses denrées alimentaires.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

Un totalde 46 souches appartenant à la famille des Entérobactéries, obtenues à partir d'études précédemment menées par le Dr Guessoum et ses étudiants dans divers projets de fin d'études, ont été isolées et conservées dans un milieu de conservation.

L'origine des différentes souches d'entérobactéries analysées dans notre étude provenaient de différentes régions de la Wilaya d'Alger est présenté dans le tableau 03 ci-dessous.



Figure 03 : Souches bactériennes étudiés sur gélose nutritive inclinée
(Photo personnelle).

▪ La Conservation des souches

Les souches d'Entérobactéries ont été conservées en duplicata dans un bouillon (Tryptone soja et glycérol) au congélateur à -20°C et dans de la gélose de conservation à $+4^{\circ}\text{C}$ au réfrigérateur.

L'ensemble des **46** souches d'*Entérobactéries* conservées et analysées sont issues de différents prélèvements.

- ⇒ **15** souches collectées au sein de laboratoire de microbiologie clinique répartissent comme suit : **05** issues de prélèvements de poulets de chair et **05** isolées des prélèvements de poissons
- ⇒ **14** souches collectées au sein de laboratoire l'institut Pasteur, isolées à partir de la viande Hachée rouge (**08**) et de la Merguez (**06**).

Tableau 03 : Origine de différentes souches bactériennes

Origines alimentaire	Nombre de souches
Produits de la pêche	15
Poulet de chair (Viande)	17
Viande hachée	8
Merguez	6
Total	46

I.2. Matériel non biologique

I. 2.1. Appareillage et petit matériel

- Microscope optique.
- Etuve réglée à 37 C.
- Tubes (écouvillons livrés sous tube plastique avec étiquette de marquage disponible avec tige en bois, en plastique, en aluminium ou papier avec embout pointe synthétique ou naturelle et stérile).
- Un portoir pour les tubes.
- Disque d'antibiogramme.
- Pied à coulisse.
- Bec bunsen.
- Anse de platine.
- Boîtes de Pétri.
- Lames et lamelles
- Vertex.
- Autoclave.
- L'eau distillée stérile.
- Huile.
- Lugol.
- Violet de gentiane.
- Alcool.
- Fuchsine basique.

I. 2.2. Milieux de culture

- Milieu Hektoen.
- Mueller Hinton.
- MacConkey.
- Milieu TSI.
- Milieu Mannitol mobilité.
- Milieu Liquide Urée_Indole.
- Eau physiologique stérile.
- Bouillon nutritif (BHIB, EAU PIPTONEE).

- Galerie Api s10.

II. Méthodes

II.1. Re-vérification des souches conservées

Les souches conservées ont bénéficié d'une re-vérification sur un bouillon nutritif (BHIB) comme nous montre la figure8.

Suivi d'une incubation à 37°C pour 24H.

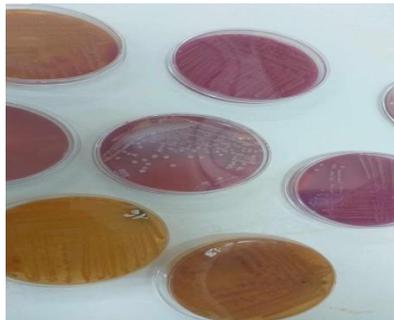


Figure 04 : Revivification des souches bactériennes étudiées (photo personnelle)

II.2. Re-isolement des souches (Purification)

A partir de bouillon nutritif, un ré-isolement a été effectuée sur les différents milieux sélectifs pour enterobactéries afin d'avoir une culture pure.

-Chaque type de colonie doit être repiqué dans le même milieu d'isolement en créant des stries espacées à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur.

-Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- Après l'incubation, il est important de s'assurer que les colonies ont les mêmes caractéristiques microscopiques et macroscopiques que lorsqu'elles ont été isolées pour la première fois.

- Continuez le repiquage jusqu'à obtenir un isolat pur présentant les mêmes caractéristiques que celles obtenues lors de l'isolement initial.

Chaque culture pure a fait objet :

- ⇒ Examen macroscopique
- ⇒ Une Coloration de Gram
- ⇒ Une identification Biochimique complète
- ⇒ Une étude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)

II.3. Examen macroscopique

L'examen macroscopique des entérobactéries implique l'observation visuelle des colonies bactérienne sur des milieux de culture.

Il consiste à évaluer des caractéristiques telles que la taille, la forme, l'odeur, la couleur, l'allure des contours et la texture des colonies ainsi le virage des milieux de culture sélectifs utilisés pour identifier ces bactéries.

Tableau04 :Aspects cultureux des Entérobactéries sur les milieux sélectifs

Milieu d'isolement	Micro-organismes	Colonies
Mac Conkey	- <i>E. coli</i> . - <i>Salmonella, Shigella et autres</i> . - <i>Enterobacter, Klebsiella</i> .	-Grandes, rouges. -Incolores, transparentes. -Grandes Roses, visqueuses
Hektoen	- <i>E.coli, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Arizona</i> . - <i>Citrobacterfreundii, Proteus vulgaris</i> . - <i>Proteus mirabilis, Salmonella</i> . - <i>Shigella, Providentia, Proteus morganii, Proteus rettgeri, Salmonella à H2S négatif</i> .	- Jaunes saumon. - jaunes saumon à centre noir -bleues ou vertes à centre noir - blanchâtres ou vertes.
SS	- <i>Salmonella à H2S(+), Proteus vulgaris et mirabilis</i> - <i>Salmonella à H2S(-), Shigella, Serratia, Proteus morganii</i> - <i>Proteus rettgeri, Providencia</i>	- Incolores à centre noir -incolores transparentes -des colonies à centre orangé

II.3. Examen microscopique

Les méthodes d'identification microbiologique peuvent être sélectionnées sur la base des résultats microscopiques.

Cette étude est menée soit par examen à l'état frais, une méthode rapide consistant à observer une suspension bactérienne entre lame et lamelle à l'objectif $\times 40$. Cette observation fournit principalement des informations sur la mobilité des bactéries. On peut prédire le type de

ciliature de la bactérie (monotriche, péritriche, etc.) en fonction de sa mobilité si elle est présente, ce qui oriente la bactérie isolée.

Soit par la coloration des cellules bactériennes, ce qui permet de voir la morphologie des bactéries et également de les classer en deux groupes (Gram négatif et/ou Gram positif) en fonction de leur capacité à retenir la coloration violette du cristal violet dans les conditions opératoires (**Annexe01**).

Habituellement, les entérobactéries sont des bactéries à Gram négatif, donc elles apparaissent roses après coloration de Gram.

II.4. Identification par la galerie biochimique classique et mini galerie (10S)

Les galeries biochimiques classiques sont utilisées pour identifier biochimiquement les germes obtenus après la purification.

Les principales caractéristiques d'identification des *Enterobacteriaceae* sont la capacité de se déplacer, de fermenter les sucres, d'utiliser le citrate et d'étudier les produits de fermentation du glucose.

1. Test de l'oxydase

Ce test sert de base à l'identification des bactéries à Gram négatif. Elle repose sur la production bactérienne de l'enzyme « cytochrome oxydase » (plus précisément « phénylène diamine oxydase ») qui pénètre dans la chaîne respiratoire.

- **Principe**

Le test consiste à démontrer la capacité des bactéries à oxyder un réactif incolore (NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

- **Technique**

- À l'aide d'une pince flambée, placez un morceau de papier imprégné de la diamine NN-diméthyl-paraphénylène sur une lame.

- Prélever une colonie cultivée sur un milieu solide avec une pipette Pasteur, puis la déposer doucement sur le papier.

- **Lecture :**

-Si la colonie devient rose ou violette, cela indique que le germe contient une oxydase, ce qui signifie que le test est positif.

-Si la colonie reste incolore, le germe n'a pas d'oxydase, ce qui signifie que le test est négatif.

2. Test de la catalase

Il s'agit d'un test de base pour identifier les bactéries à Gram positif.

- **Principe**

La catalase est une enzyme produite en abondance par des bactéries dont le métabolisme respiratoire est capable de détruire le peroxyde H₂O₂, mortel pour les bactéries. Ce test est basé sur la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et oxygène selon la réaction suivante :



- **Technique**

- Sur une lame de verre propre et sèche, ajouter quelques gouttes d'eau oxygénée 10 volumes,
- Ajouter l'inoculum bactérien à l'aide d'une anse de Platine ou d'une pipette Pasteur
- Observer immédiatement à l'œil nu.

- **Lecture**

- Libération de gaz : Indique la production de dioxygène (O₂) lors de la décomposition de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) : caractérise une souche comme étant catalase positive.
- Absence de dégagement de gaz : Indique l'absence de production de dioxygène (O₂) lors de la décomposition de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) : caractérise une souche comme étant catalase négative.



Figure 05 : Test de catalase (photo personnelle).

3. Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H₂S sur le milieu TSI

- **Principe**

La gélose TSI est utilisée pour orienter l'identification des entérobactéries. C'est un milieu différentiel qui peut être utilisé pour mettre en évidence la fermentation du glucose, du lactose et/ou du saccharose et la production de gaz et de H₂S.

- **Technique**

- Prélever quelques gouttes de la suspension bactérienne avec une pipette Pasteur ou une anse en platine. Inoculer la surface inclinée en stries serrées et le culot par piqûre centrale.

- Mettre à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

- l'utilisation d'un sucre fait virer l'indicateur au jaune (rouge de phénol).

- **Lecture**

- La fermentation des glucides (glucose, saccharose, lactose) provoque une production d'acide qui est détectée par l'indicateur rouge de phénol, le milieu vire vers le jaune :

- ✓ Fermentation positive du lactose : virage au jaune de la pente.
- ✓ Fermentation positive du saccharose : virage au jaune de la région médiane.
- ✓ Fermentation positive du glucose : virage au jaune fond de tube.

- La présence de bulles et le déplacement du milieu vers le haut signifie qu'il y a production du gaz.

- La production d'H₂S se traduit par un précipité noir.

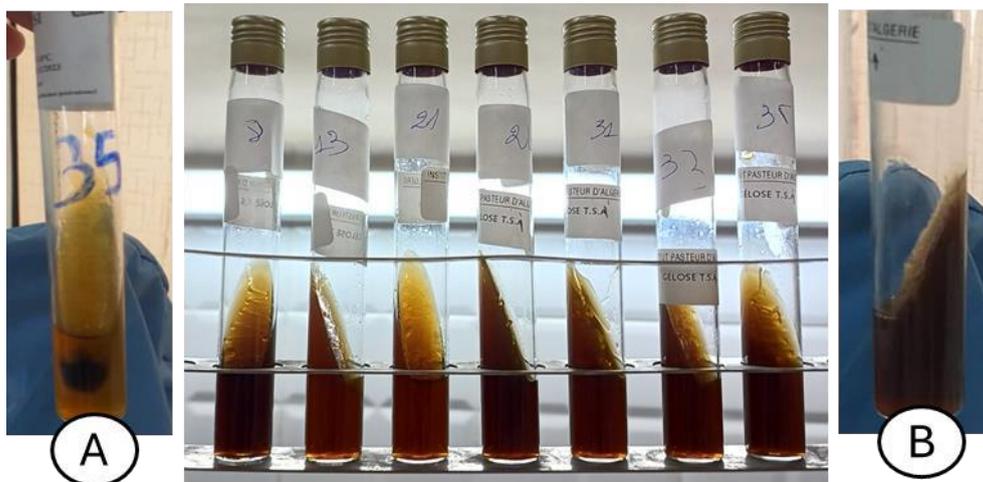


Figure 06 : Gélose TSI

A: TSI + avec production de H₂S **B:** Gélose TSI-

4. Test de Mannitol Mobilité

- **Principe**

Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant du mannitol et du rouge de phénol comme indicateurs colorés, incluant l'étude de la fermentation du mannitol conduisant à l'acidification du milieu et à la motilité bactérienne.

- **Technique**

- A l'aide d'une pipette pasteur stérile ou une anse en platine, ensemencer le milieu par piqure centrale ;
- Incuber à 37°C pendant 18-24 heures, ce milieu ne peut être utilisé que pour les bactéries fermentaires.
- L'interprétation des résultats se fait par lecture directe

- **Lecture**

- Réaction positif : fermentation du mannitol se traduit par un virage de l'indicateur colorée de rouge vers le jaune. La mobilité se traduit par l'apparition d'un trouble au milieu dû à la diffusion des bactéries.
- Réaction négatif : pas de changement de couleur.



Figure 07 : Test de mannitol mobilité 01(-) et 02 (+) avec mobilité (photo personnelle).

5. Recherche de la β -galactosidase : test ONPG

- **Principe**

Le test ONPG consiste à rechercher la présence de β -galactosidase. Comme substrat, nous n'utilisons pas de lactose mais un autre β -galactoside : l'ortho-nitrophényl-galactoside. Permet de rechercher une enzyme (β galactosidase) capable de décomposer le lactose en glucose et galactose.

- **Technique**

- Préparer une suspension bactérienne concentrée dans 0,5 ml d'eau stérile. Les bactéries proviennent d'une culture sur milieu MacConkey.
- Placer aseptiquement un disque en carton imprégnée de substrat ONPG.
- Incuber à 37°C, surveiller toutes les 15 minutes pendant 1 heure.

- **Lecture**

La présence d'ONP dans le milieu résultant de l'hydrolyse de l'ONPG se manifeste par une couleur jaune stable et l'absence d'ONP dans le milieu ; L'ONPG n'est pas hydrolysé, il n'y a pas de couleur jaune.

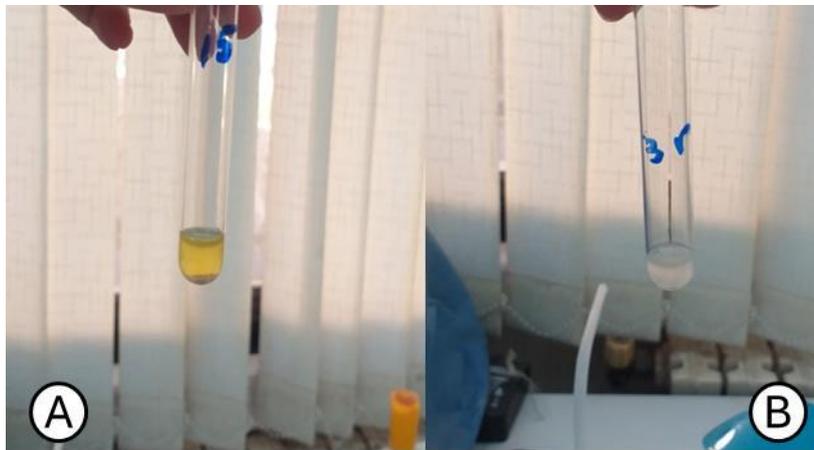


Figure08: test ONPG (En A - . eten B +)

6. Test du Rouge de Méthyle (RM) et du Voges-Proskauer (VP)

- **Principe**

Le milieu Clark et Lubs peut être utilisé pour étudier les voies de fermentation des entérobactéries et faire la distinction entre la « fermentation acide mixte » et la fermentation du « butylène glycol ».

- ✓ Le test RM : Test RM : permet de mettre en évidence, à l'aide du rouge de méthyle, une fermentation acide mixte en acidifiant le milieu glucose après fermentation du glucose.
- ✓ Le test VP : permet de démontrer la production d'acétoïne (ou 3-hydroxybutanone) lors de la fermentation du butylène glycol en présence d'une base forte (soude ou chlorure de potassium) et d'À-naphtol. L'acétoïne donne une couleur rouge dans un milieu à forte teneur en oxygène.

- **Technique**

-Ensemencer un milieu de Clark et Lubs.

-Incuber 24h à 30°C.

- Après incubation le milieu est partagé en deux tubes pour réaliser les tests.

-Dans le premier tube, ajouter le Rouge de Méthyle. Pour le deuxième, ajouter quelques gouttes de KOH ou NaOH (réactif VP1) et 10 gouttes d'alphanaphtol (réactif VP2), incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation et attendre quelques minutes jusqu'à une heure.

- **Lecture**

-Le premier tube : une coloration jaune (RM-) donc le pH est faiblement acide et rouge (RM+) donc un très acide.

-Le deuxième tube : La présence d'acétoïne (bactérie VP positive) se traduit par une coloration rose en surface mais pouvant diffuser dans tout le milieu.



Figure 09: Test de RM.

Figure 10 : Test de RM+.**Figure 11 :**Test de VP-.

7. Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase

- **Principe :**

Le milieu urée-tryptophane, appelé à tort urée-indole, est un milieu synthétique utilisé en bactériologie qui permet la détection simultanée de :

➤ la production d'indole (par hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase)

➤ l'uréase (par hydrolyse de l'urée).

- **Technique :**

- Ensemencer abondamment un milieu urée-indole avec quelques colonies de la souche à étudier.

-incuber 24 heures à 37°C.

- on ajoute quelques gouttes de réactif de kovacs après on fait la lecture des résultats.

- **Lecture :**

- Production d'une Uréase : coloration rose violette.

- Production d'indole : apparition d'un anneau rouge à la surface.



Figure 12:Test uree indole (photo personnelle).

8. Galerie API S10

La galerie API 10S (Biomérieux) est une galerie de 10 microtubes prêts à être utilisés contenant un substrat déshydraté, ce qui permet de réaliser 10 tests biochimiques pour identifier des bacilles à Gram (-) appartenant à la famille des Enterobacteriaceae.

Il s'agit d'une version simplifiée de la galerie API 20 E avec 10 tests au lieu de 20 (la réaction de l'oxydase est le 11ème test et la réduction des nitrates en nitrites (NO₂) le 12ème) :

Le déroulement de l'ensemencement est le suivant :

- Tout d'abord, on retrouve le fond et le couvercle d'une boîte spécifique d'incubation. On ajoute environ 3 ml d'eau distillée dans l'alvéole afin de créer une atmosphère humide. Ensuite, on place la galerie dans la boîte d'incubation.
- À l'aide d'une diapositive de galerie et d'une pipette Pasteur, prélever une ou deux colonies bien isolées du GN. Une suspension bactérienne est donc obtenue en homogénéisant soigneusement les bactéries présentes dans le milieu.

- La même pipette est utilisée pour introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie (pour éviter la formation de bulles d'air au fond des tubes, la pointe de la pipette est placée sur le côté de la cupule en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant).
- Pour le test d'utilisation du citrate, le tube et la cupule sont remplis. Par contre pour les autres tests uniquement le tube est rempli.
- L'anaérobiose est obtenue lors des tests LDC, ODC, UREE et H₂S en remplissant les cupules avec de l'huile de paraffine. Ensuite, la boîte d'incubation est fermée et incubée à une température de 37°C pendant 24 heures.

Une fois incubée, il est nécessaire de consulter la galerie en se basant sur le tableau de lecture(**Annexe 03**).

L'identification est réalisée soit par une méthode dichotomique utilisant le codage API (profil numérique), soit par une méthode probabiliste utilisant un logiciel informatique. Dans cette étude, un profilage numérique est effectué.



Figure 13 :Technique d'ensemencement de la galerie APIS10 (photo personnelle).

II.5. Antibiogramme

Les souches purifiées sont exposées à une identification des profils de résistance à l'aide d'un antibiogramme standard réalisé par la méthode de diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques, effectué dans un milieu gélose Muller Hinton (MH) conformément aux directives du CLSI (**CLSI, 2020**).

II.5.1. Principe

Des disques faits de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont placés sur la surface d'un milieu gélosé déjà ensemencé avec une culture pure de la souche à analyser. Les antibiotiques utilisés dans cette étude sont répertoriés dans le tableau suivant :

Tableau 05 :Antibiotiques testés pour les Entérobactéries(Nauciel et Vildé, 2005)

La famille	Les antibiotiques	La charge	
Les β -lactamines	Pénicilline A	Amoxicilline (AML)	25 μ g
		Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC)	30 μ g
	Carboxypénicilline	Ticarcilline (TIC)	75 μ g
		Ticarcilline + Acide clavulanique (TCC)	75+10 μ g
	Uréidopénicilline	Pipéracilline (PRL)	100 μ g
	C1G	Céfalotine(KF)	30 μ g
	C2G	Céfoxitine (FOX)	30 μ g
	C3G	Céfotaxime (CTX) Ceftazidime (CAZ)	30 μ g
	Carbapénème	Imipénème (IMP)	10 μ g
Monobactame	Aztréoname (AT)	30 μ g	
Les Aminosides	Gentamycine (CN)	10 μ g	
	Tobramycine (TOB)	10 μ g	
	Amikacine (AK)	20 μ g	
Fosfomycine	Fosfomycine (FF)	200 μ g	

PARTIE EXPERIMENTALE | MATERIEL ET METHODES

Cycline	Tétracycline (TE)	30 µg
Fluoroquinolone	Ciprofloxacine (CIP)	5 µg
Polymyxine	Colistine (CT)	10 µg

Immédiatement après l'application des disques, les antibiotiques se diffusent de manière uniforme, leur concentration diminuant de manière inversement proportionnelle à la distance du disque. La croissance bactérienne cesse là où la concentration d'antibiotique dans le milieu gélosé atteint la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Les caractères de résistance ou de sensibilité de la souche en seront déduits (**Rahal et al., 2014**).

II.5.2. Technique

1. Milieu pour antibiogramme

La gélose de Mueller-Hinton est coulée en boîtes Pétri stériles ; Et doivent être séchées avant l'emploi.

2. Préparation de l'inoculum

- Suite à la revivification des souches étudiées * et à partir d'une culture pure développée sur un milieu d'isolement adéquat pendant 18 à 24 heures, des colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées en raclant à l'aide d'un écouvillon.

- décharge l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.

La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée, visant à obtenir une opacité équivalente à 0,5 unité de macfarland(MF).

- l'inoculum peut être ajusté en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop concentré.

- l'ensemencement doit être effectué dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum.

3. Ensemencement

- Un écouvillon stérile et sec est immergé dans la suspension bactérienne puis légèrement déchargé en pressant contre la paroi interne du tube.
- L'écouvillon est ensuite frotté sur l'ensemble de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en effectuant des stries serrées.
- L'opération est répétée trois fois avec rotation de 60° à chaque fois, tout en n'oublier pas de faire retourner l'écouvillon sur lui-même. Conclure l'ensemencement en passant l'écouvillon le long de la périphérie de la gélose.
- Il faut recharger l'écouvillon à chaque fois que on ensemence une bite de pétri

4. Application des disques d'antibiotiques

- Il est recommandé de ne pas placer plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques sont disposés au centre, à environ 25 mm du contre-centre.
- Chaque disque d'antibiotique est pris à l'aide d'une pince stérile et déposé sur la gélose (MH) ensemencée
- Presser chaque disque d'antibiotique pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

5. Incubation et lecture

- L'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures

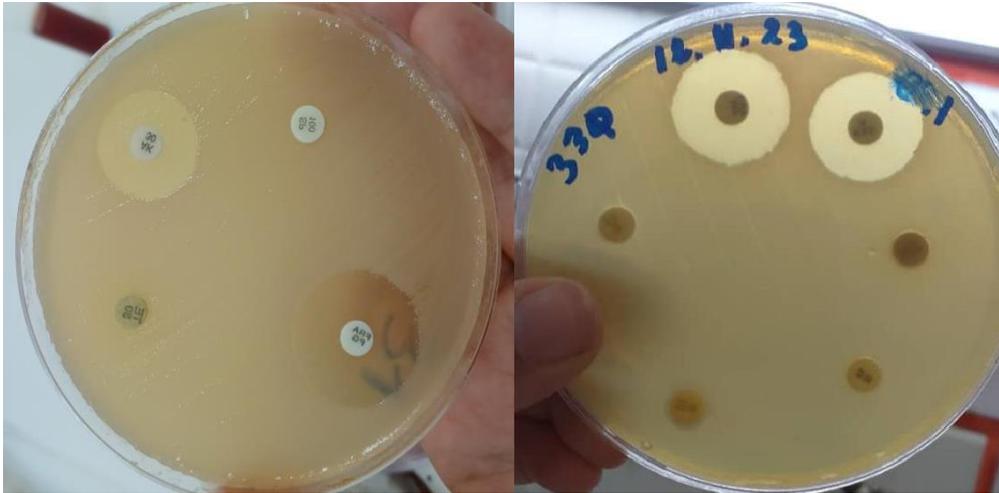


Figure14:Exemples de milieux gélosés montrant les spectres d'inhibition de différents Antibiotiques.

- L'évaluation de l'antibiorésistance des souches repose sur une mesure précise des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique.
- Les mesures seront effectuées en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) spécifiées pour les entérobactéries, telles qu'indiquées dans les tables de lecture de standardisation de l'antibiogramme de l'échelle nationale Médecine humaine et vétérinaire 7ème Édition (2014).
- Les souches sont finalement classées en : sensibles (S), intermédiaires (I), résistantes (R) (**Annexes 04**).



Figure15 :Calcul de diamètre d'inhibition avec le pied coulisse (photo personnelle).

II.6. Le Calcul de la résistance Multiple aux Antibiotiques (MAR)

Parmi les entérobactéries isolées, l'indice MAR est défini comme a/b , où "a" représente le nombre d'antibiotiques auxquels l'isolat était résistant et "b" représente le nombre d'antibiotiques auxquels l'isolat a été exposé.

La méthode de détermination de la résistance multiple aux antibiotiques (MAR) a été analysée selon les directives de **Krumperman (1983)**.

L'indice MAR a été calculé en divisant le nombre d'antibiotiques auxquels l'isolat testé était résistant par le nombre total d'antibiotiques auxquels cet isolat a été évalué pour sa susceptibilité.

Résultats et Discussion

III. Résultats et Discussion

II.1. Résultats de l'isolement et de l'identification

Parmi les **65** souches suspectes appartenant à la famille des *Entérobactéries* et provenant de diverses denrées alimentaires, conservées au laboratoire de microbiologie clinique, nous avons réussi à purifier et confirmer l'identification de **45** souches.

Ces souches appartiennent aux genres *Escherichia*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Klebsiella* et *Enterobacter*, ce qui représente un total de 45 isolats identifiés.

Il est à noter que :

Tous les prélèvements étaient positifs pour au moins une des bactéries isolées, avec des cas où plusieurs espèces ont été détectées dans un même échantillon. La fréquence des autres espèces variait entre 3 et 15 isolats, et aucune *Salmonella* n'a été trouvée. Les résultats sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 06 : Nombres absolus (n) et fréquences (%) des isolats bactériens

Bactéries isolées	Nombre d'isolats	Fréquence d'isolement (%)
<i>Escherichia coli</i>	15	33.33%
<i>Citrobacterspecies</i>	3	6.67%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	13.33%
<i>Proteus mirabilis, vulgaris</i>	8	17.78%
<i>Pseudomonas</i>	7	15.56%
<i>Klebsiella species</i>	6	13.33%
Total	45	100%

L'étude a révélé une diversité de bactéries isolées. *Escherichia coli* a été identifiée comme la bactérie la plus prédominante, avec **15** isolats, représentant ainsi environ un tiers (**33,3%**) de la totalité des Entérobactéries identifiées.

Les autres Entérobactéries identifiées comprenaient des espèces de *Citrobacter*, avec **3** isolats (**6,67%** de la totalité), *Enterobacter aerogenes* avec **6** isolats (13,33%), et les souches de *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris*, combinées pour un total de **8** isolats (**17,78%**).

Les *Pseudomonas* ont été retrouvées dans 7 isolats (15,56% de l'ensemble), tandis que les espèces de *Klebsiella* ont été identifiées dans 6 isolats (13,33%). Les taux d'isolement par genre bactérien sont présentés dans la figure 01.

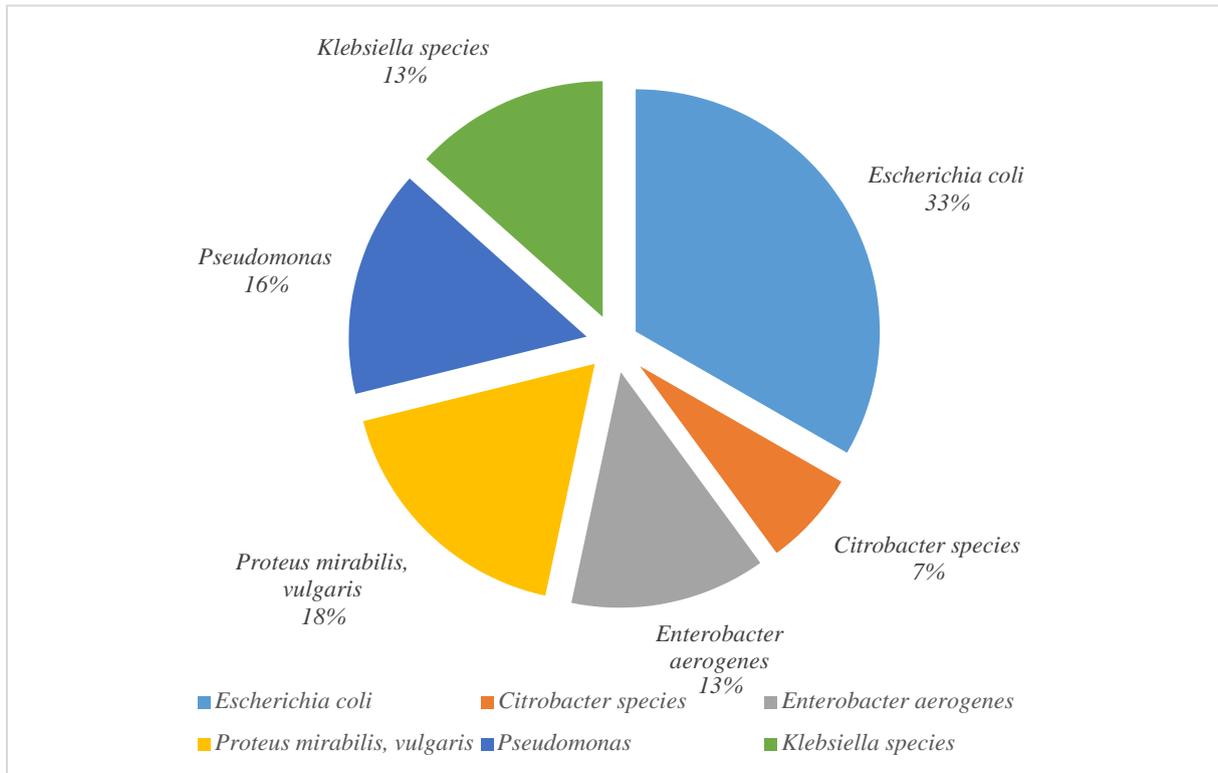


Figure 20 : Taux d'isolement des différentes Entérobactéries.

L'omniprésence des Entérobactéries dans les denrées alimentaires constitue un enjeu majeur pour l'industrie agroalimentaire à l'échelle mondiale, comme l'a souligné une étude récente dirigée par le Dr. Marie Dubois et publiée dans le Journal of Food Protection en 2023.

Les préoccupations récentes en matière de sécurité alimentaire ont mis en exergue le rôle crucial des Entérobactéries dans la contamination des produits alimentaires, en particulier par le biais des matières fécales animales.

Avec l'augmentation des cas de maladies d'origine alimentaire signalés dans de nombreuses régions du monde, il est devenu impératif pour l'industrie alimentaire de mettre en œuvre des mesures efficaces de prévention et de contrôle pour réduire la propagation de ces bactéries pathogènes (Martin, 2023).

Dans notre étude, nous avons observé le niveau d'isolement et d'identification le plus élevé pour *E. coli*, une bactérie représentant un risque notable en matière de contamination alimentaire.

Plusieurs études récentes ont mis en évidence l'importance de surveiller la présence d'*E. coli* dans les aliments. **Garcia et ses collègues en 2021** a identifié des souches virulentes d'*E. coli* associées à des épisodes de maladies d'origine alimentaire. De même, l'étude de **Lee et al. (2022)** a souligné les risques pour la santé publique liés à la contamination par *E. coli* dans les aliments.

De plus, une méta-analyse récente réalisée par **Wang et al. (2023)** a examiné les tendances de contamination par *E. coli* dans divers types d'aliments à l'échelle mondiale.

Ces recherches soulignent donc l'importance cruciale de la surveillance continue de la contamination par *E. coli* dans l'industrie alimentaire, ainsi que la nécessité de mettre en œuvre des mesures de contrôle rigoureuses pour garantir la sécurité des consommateurs.

Le rôle de *Proteus spp.* dans la contamination alimentaire est bien documenté. Leur présence dans les aliments peut résulter de diverses sources, telles que la contamination environnementale lors de la production, du traitement ou de la manipulation des aliments. Une étude importante réalisée par **Johnson et al. (2019)** a souligné le potentiel pathogène de certaines souches de *Proteus spp.* dans les aliments, mettant en évidence leur capacité à causer des maladies d'origine alimentaire chez l'homme.

Dans notre étude, il convient de noter que le niveau de contamination le plus bas a été observé pour *Citrobacterspp.* Cette constatation suggère que, parmi les différentes souches de bactéries entériques étudiées, *Citrobacterspp.* présente une prévalence moindre dans l'échantillon analysé. Cette observation peut être importante du point de vue de la sécurité alimentaire, car une contamination plus faible par *Citrobacterspp.* pourrait indiquer une moindre probabilité de contamination croisée ou de présence de cette bactérie dans les produits alimentaires analysés.

Comparé à d'autres études récentes, notre constatation d'un niveau de contamination plus faible par *Citrobacterspp.* est cohérente avec certaines recherches antérieures. L'étude menée par **Garcia et ses collègues (2022)** ainsi que celle réalisée par **Nguyen et al. (2021)** ont également constaté des niveaux de contamination relativement bas pour *Citrobacterspp.* dans des échantillons alimentaires similaires.

Un autre exemple, une étude menée par **Smith et al. (2023)** a également observé des niveaux de contamination relativement bas pour *Citrobacterspp.* dans des échantillons alimentaires similaires. Cette cohérence dans les résultats renforce la fiabilité de nos conclusions et

suggère que *Citrobacterspp.* peut présenter une prévalence moins élevée que d'autres bactéries entériques dans certaines situations.

Une étude pertinente a examiné la prévalence des Enterobacteriaceae, y compris les espèces d'*Enterobacter*, dans divers aliments en Chine. Les résultats ont révélé la présence fréquente de ces bactéries dans un large éventail d'aliments, notamment la viande, le fromage, les légumes et les condiments (**Wang et al., 2020**).

Dans notre étude, aucune souche de *Shigella* n'a été isolée, ce qui contraste avec les résultats de certaines autres études.

Pseudomonas est un autre micro-organisme d'importance dans la contamination alimentaire. Son introduction dans les aliments peut se produire à divers stades de la production, du stockage ou de la manipulation, notamment en raison de pratiques de production non hygiéniques ou de conditions de stockage inadéquates.

Des études récentes, telles que celles menées par **Chen et al. (2021)** et **Nguyen et al. (2022)**, ont mis en évidence le rôle potentiellement pathogène de certaines souches de *Pseudomonas* dans les aliments. Ces recherches ont souligné la capacité de certaines souches à produire des toxines et à survivre dans des conditions environnementales défavorables, ce qui peut entraîner des risques pour la santé publique en cas de consommation d'aliments contaminés. En outre, une analyse de la littérature effectuée par **Smith et al. (2023)** a examiné les tendances de contamination par *Pseudomonas* dans les produits alimentaires à l'échelle mondiale.

Pra rapport aux *Klebsiella*, Divers aspects de *Klebsiella* dans le contexte alimentaire ont été examinés dans des études récentes montrant l'importance croissante de cette bactérie dans la sécurité alimentaire. Par exemple, une recherche menée par **Rodriguez et al. (2023)** a examiné la diversité génétique des souches de *Klebsiella* trouvées dans les aliments et a identifié des variations significatives dans leur potentiel pathogène.

De plus, une étude menée par **Garcia et ses collègues (2022)** a analysé les facteurs environnementaux favorisant la prolifération de *Klebsiella* dans les chaînes alimentaires, mettant en lumière les défis complexes de la sécurité alimentaire moderne.

II.2. Taux de résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Les 45 souches d'entérobactéries ont été soumises à des tests de sensibilité à une gamme d'antibiotiques, y compris une combinaison sulfaméthoxazole-triméthoprimine (25 mcg), de pénicilline (10 mcg), de tétracycline (30 mcg), de gentamicine (10 mcg), d'érythromycine (15 mcg), d'ampicilline (10 mcg), de kanamycine (30 mcg), de néomycine (10 mcg), de cloxacilline (5 mcg) et de lincomycine (15 mcg) et de l'imipineme (15mcg). Les résultats ont permis d'analyser la sensibilité de chacune des 45 souches d'entérobactéries à une variété d'antibiotiques, offrant ainsi un aperçu détaillé des profils de résistance observés.

Les disques d'antibiotiques utilisés ont été choisis en fonction de leur disponibilité au laboratoire au moment de l'étude.

II.2.1. Taux de résistance d'*Escherichia coli*

Au cours de cette étude un total de 15 souches d'*E. coli* été isolé. Les *E. coli* isolées ont montré des taux de résistance variables à chaque antibiotique, comme indiqué dans la figure 2.

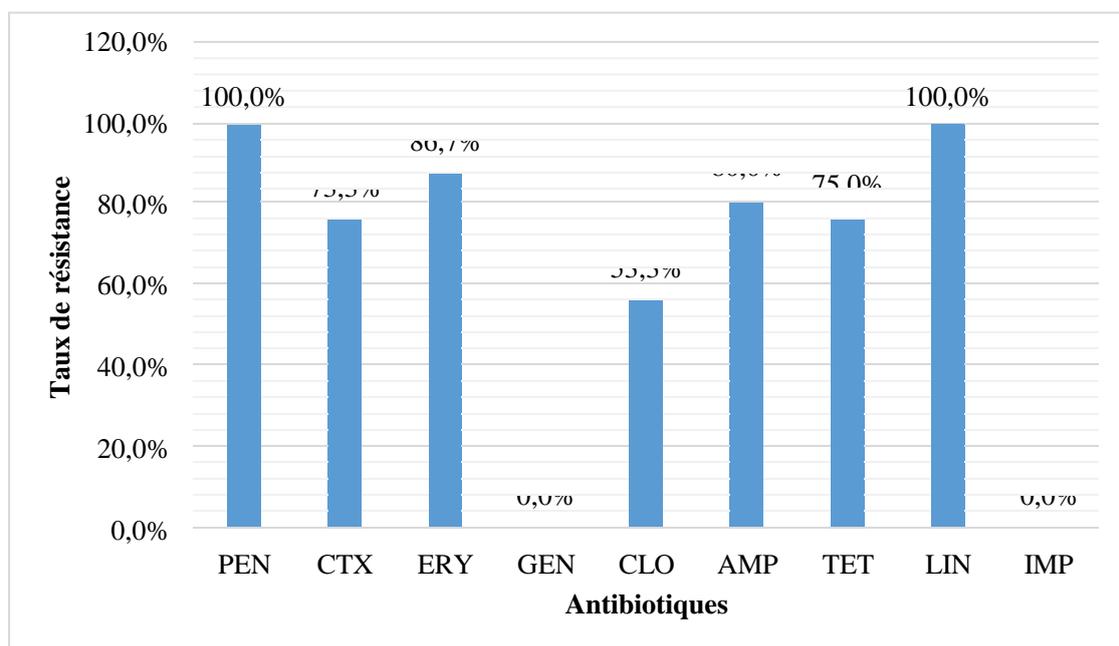


Figure 21 : Taux de résistance des souches d'*E.coli*.

Toutes les souches d'*E.coli* identifiées dans notre étude ont présenté une résistance à la lincomycine et à la pénicilline. Treize isolats sur l'ensemble ont présenté une résistance à l'érythromycine, ce qui représente un taux de 86 %. Un taux de résistance de plus de 70 % a été noté pour la tétracycline et l'ampicilline.

Toutes les souches isolées ont présenté une sensibilité à la gentamicine et à l'imipénème. Le nombre de souches résistantes ainsi que les taux de résistance des *E.coli* identifiées aux différents antibiotiques testés est présenté sur le tableau 02.

Tableau 07 : Taux de résistance des souches d'*E.coli*.

Antibiotiques testés	PEN	CTX	ERY	GEN	CLO	AMP	TET	LIN	IMP
Taux de résistance	100,0 %	73,3 %	86,7 %	0,0%	53,3 %	75,0 %	75,0 %	100,0 %	0,0 %
Nombre de souches	15	12	13	0	8	12	12	15	0

Le détail de profil d'antibio-résistance des différentes souches d'*E.coli* est présenté en Annexe (Annexe 05).

II.2.2. Taux de résistance de *Proteus spp.*

Au cours de cette étude, un ensemble de 8 souches de *Proteus spp* a été identifié et isolé. Les résultats ont révélé des taux de résistance variables selon l'antibiotique testé pour chacune. Ces données ont été synthétisées et présentées visuellement dans la Figure 03.

Nous avons constaté un niveau élevé de résistance à la pénicilline, à l'érythromycine et à la lincomycine. En revanche, une sensibilité totale a été observée envers la gentamicine et l'imipénème.

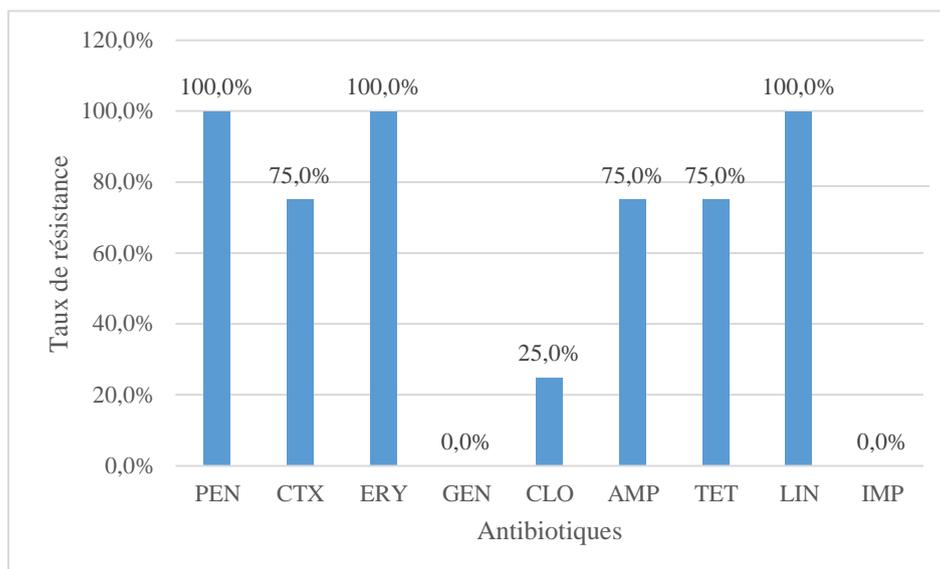


Figure 22 : Taux de résistance des souches de *Proteus spp.*

Les taux de résistance globaux pour chaque antibiotique pour les souches de *Proteus spp* sont les suivants : pénicilline (100 %), céfotaxime (75 %), érythromycine (100 %), gentamicine (0

%), clindamycine (25 %), ampicilline (75 %), tétracycline (75 %), lincomycine (100 %) et imipénème (0 %).

Tableau 08 : Taux de résistance des souches de *Proteus species*.

Antibiotiques testés	PEN	CTX	ERY	GEN	CLO	AMP	TET	LIN	IMP
Taux de résistance	100,0%	75,0%	100,0%	0,0%	25,0%	75,0%	75,0%	100,0%	0,0%
Nombre de souches	8	6	8	0	2	6	6	8	0

Le détail de profil d'antibio-résistance des différentes souches de *Proteus species* est présenté en Annexe (Annexe 06).

II.2.3. Taux de résistance de *Pseudomonas*, *Klebsiella* et *Enterobacter*

Les résultats révèlent des variations significatives dans la résistance aux antibiotiques entre les trois bactéries étudiées, à savoir *Pseudomonas*, *Klebsiella* et *Enterobacter*, face aux antibiotiques utilisés.

Nous avons remarqué que *Pseudomonas* démontre une résistance totale à la pénicilline, tandis que *Klebsiella* présente une résistance moindre et *Enterobacter* se situe entre les deux extrêmes.

Toutes les bactéries étudiées montrent une résistance totale à l'érythromycine. Cependant, tant *Pseudomonas* que *Klebsiella* exhibent une sensibilité totale à la gentamicine, tandis qu'*Enterobacter* présente également une sensibilité élevée.

De plus, les trois bactéries montrent une sensibilité totale à l'imipénème. Enfin, des variations dans les taux de résistance sont observées pour d'autres antibiotiques tels que la céfoxitine, la clindamycine, l'amoxicilline, la tétracycline et la lincomycine.

Tableau 10 : Taux de résistance des souches de *Pseudomonas*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

	PEN	CTX	ERY	GEN	CLO	AMP	TET	LIN	IMP
<i>Pseudomonas</i>	100,0%	28,6%	100,0%	0,0%	42,9%	14,3%	28,6%	100,0%	0,0%
<i>Enterobacter</i>	83,3%	33,3%	100,0%	0,0%	50,0%	33,3%	33,3%	100,0%	0,0%
<i>Klebsiella</i>	16,7%	16,7%	100,0%	0,0%	33,3%	33,3%	66,7%	16,7%	0,0%

Les données recueillies sur la résistance aux antibiotiques révèlent : Pour *Pseudomonas*, la résistance à la pénicilline (PEN) est de 100,0. La céfoxitine (CTX) révèle un taux de résistance de 28,6%. Concernant l'érythromycine (ERY), toutes les souches de *Pseudomonas* sont résistantes à 100,0%, tandis que la gentamicine (GEN) montre une sensibilité totale avec un taux de résistance de 0.0%. La clindamycine (CLO) présente un taux de résistance de 42,9%. Pour l'amoxicilline (AMP), le taux de résistance est de 14,3%. La tétracycline (TET) montre une résistance de 28,6%. La lincomycine (LIN) présente une résistance totale à 100,00%. Enfin, l'imipénème (IMP) montre une sensibilité totale avec un taux de résistance de 0.0%.

Les *Enterobacter* présente une résistance marquée à la pénicilline (83,3%) et une résistance totale à l'érythromycine (100,00%) et à la lincomycine(100,00%) . Néanmoins, elle démontre une sensibilité marquée à gentamicine (100,00%) et à l'imipénème (100,00%). Des résistances partielles sont observées avec des pourcentages de résistance de 33,3% pour la céfotaxime, la clindamycin et l'ampicilline.

Les *Klebsiella* dévoile une la résistance à la pénicilline (PEN) de 16,7%. La céfoxitine (CTX) montre un taux de résistance de 16,7%. L'érythromycine (ERY) révèle une résistance complète à 100,0%, tandis que la gentamicine (GEN) montre une sensibilité totale à 0,0%. La clindamycine (CLO) présente un taux de résistance de 33,3%. Pour l'amoxicilline (AMP), le taux de résistance est de 33,3%. La tétracycline (TET) montre une résistance de 66,7%. La lincomycine (LIN) présente une résistance totale à 16,7%. Enfin, l'imipénème (IMP) montre une sensibilité totale à 0,0%.

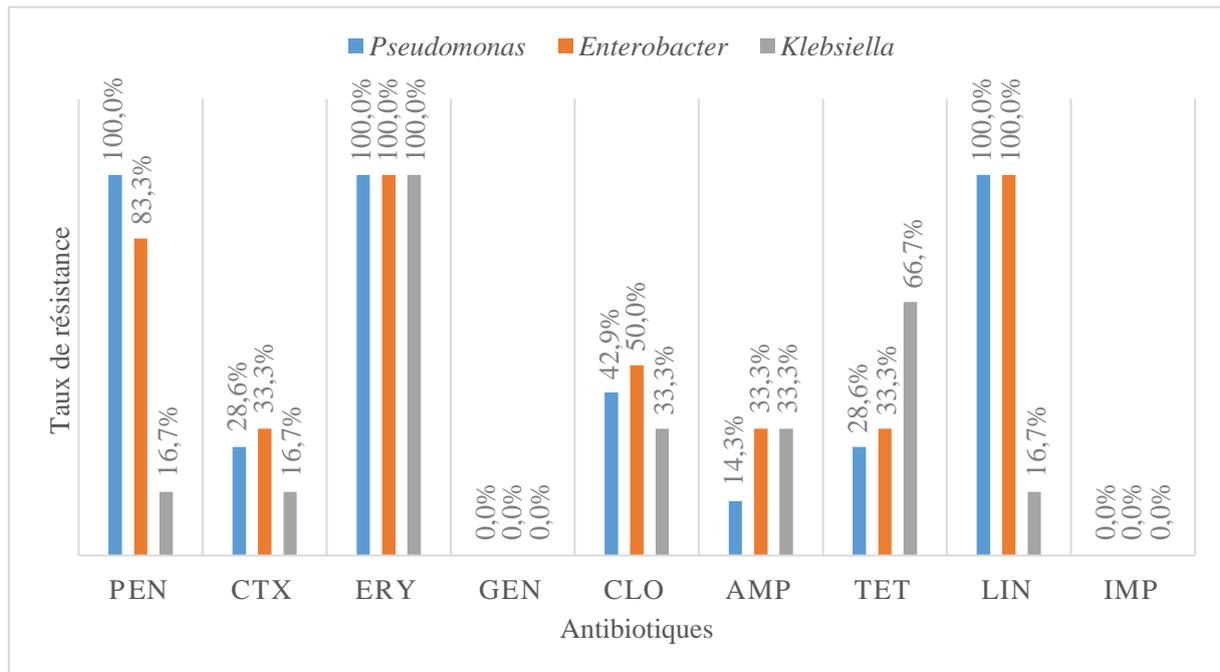


Figure 23: Taux de résistance des souches de *Pseudomonas*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

Le détail de profil d'antibio-résistance des différentes souches *Pseudomonas*, *Enterobacter* et *Klebsiella* est présenté en Annexe (**Annexe 07**)

En ce qui concerne la résistance aux antibiotiques, nos résultats concordent avec ceux de plusieurs autres études. Par exemple, **Wang et al. (2023)** ont également observé des niveaux élevés de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli*, ce qui renforce la validité de nos conclusions.

De même, les travaux de **Chen et al. (2021)** ont mis en évidence le rôle potentiellement pathogène de certaines souches de *Pseudomonas* dans les aliments, ce qui est cohérent avec notre constatation de résistance totale à la pénicilline chez *Pseudomonas*.

En outre, notre observation de profils de résistance variables mais généralement plus élevés chez *Escherichia coli* et *Proteus spp.* par rapport à *Klebsiella* et *Enterobacter* est en accord avec les conclusions de plusieurs études antérieures.

Par exemple, les travaux de **Garcia et al. (2022)** ont également signalé des niveaux élevés de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* et *Proteus spp.*, ce qui confirme la tendance générale observée dans notre étude.

En résumé, nos résultats sont cohérents avec un ensemble de recherches antérieures qui ont également examiné la prévalence des Entérobactéries dans les aliments ainsi que leur profil de résistance aux antibiotiques.

Cette convergence de résultats souligne l'importance continue de la surveillance et de la gestion de la résistance aux antibiotiques dans le domaine de la sécurité alimentaire.

II.3. Profil de multirésistance des entérobactéries

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolées dans notre étude a révélé l'existence de souches bactériennes multi-résistantes quel que soit leur origine.

L'étude de profil de résistance a dévoilé des résistances associées à 2,3, 4,5, 6 et 7 antibiotiques avec une divergence des profils de résistance.

Les profils de résistance obtenus sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11: Profil de multirésistance des Entérobactéries étudiées.

Les souches	Résistance associée à	Profil de l'antibiorésistance	Nombre de souches	Total
<i>Escherichia coli</i>	03 ATB	PEN , CTX, LIN	1	1
	04 ATB	PEN , CTX, ERY, LIN	2	3
		PEN , AMP, TET, LIN	1	
	06 ATB	PEN , CTX, ERY, AMP, TET, LIN	5	8
		PEN , ERY, CLO, AMP, TET, LIN	3	
07 ATB	PEN , CTX, ERY ,CLO, AMP, TET, LIN	3	3	
<i>Proteus</i>	04 ATB	PEN , CTX, ERY, LIN	2	2
	05ATB	PEN , ERY, AMP, TET, LIN	2	2
	06 ATB	PEN , CTX, ERY, AMP, TET, LIN	2	2
	07 ATB	PEN , CTX, ERY, CLO, AMP, TET, LIN	2	2
<i>Pseudomonas</i>	03 ATB	PEN , ERY, LIN	1	1
	05 ATB	PEN , ERY, AMP, TET, LIN	1	1
	06 ATB	PEN, CTX, ERY, AMP, TET, LIN	1	1
	07 ATB	PEN, CTX, ERY, CLO, AMP, TET, LIN	4	4
<i>Enterobacter</i>	04 ATB	PEN , CTX, ERY, LIN	2	2
	05 ATB	ERY, CLO, AMP, TET, LIN	1	1
	06 ATB	PEN , CTX, ERY, AMP, TET, LIN	2	2
	07 ATB	PEN , CTX, ERY, CLO, AMP, TET, LIN	1	1
<i>Klebiella</i>	04 ATB	PEN , CTX, ERY, LIN	2	2
	05 ATB	ERY, CLO, AMP, TET, LIN	1	1
	06 ATB	PEN , CTX, ERY, AMP, TET, LIN	2	3

Les résultats montrent une prévalence significative de multirésistance parmi les souches étudiées, avec 42 résistances observées sur 45 possibles, indiquant une forte propension des bactéries à résister à plusieurs antibiotiques. *E. coli* démontre une multirésistance particulièrement élevée avec 8 souches résistantes à 06 ATB et 3 souches à 07 ATB. *Proteus* et *Enterobacter* présentent des profils de résistance similaires, avec une prédominance de résistance à 04, 05, 06, et 07 ATB. *Pseudomonas* présente une résistance notable à 07 ATB, suggérant une capacité élevée de cette souche à résister à une large gamme d'antibiotiques, tandis que *Klebsiella* montre également une multirésistance avec un nombre élevé de souches résistantes à 06 ATB. La forte incidence de la multirésistance observée souligne la nécessité de stratégies robustes de gestion des antibiotiques, incluant la surveillance continue des profils de résistance et l'optimisation de l'utilisation des antibiotiques dans les pratiques cliniques.

II.4. Indice de Multirésistance (IMR)

Pour calculer l'indice de multirésistance (IMR) à partir des données fournies dans le tableau précédent, nous allons utiliser les informations pour chaque souche bactérienne et leur résistance aux antibiotiques (ATB). L'IMR se calcule en divisant le nombre total de résistances observées par le nombre total de souches testées et multiplié par le nombre de catégories d'antibiotiques testés.

Tableau 12 : Nombre total de résistances observées.

Souches	<i>E. coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>
Nombre total de résistance	15	08	07	06	06

Calcul de l'IMR:

$$IMR = \frac{\text{Nombre total de résistances observées}}{\text{Nombre total de souches testées} \times \text{Nombre de catégories d'ATB testé}}$$

$$IMR = \frac{42}{45 \times 5}$$

$$IMR = 0.2$$

$$IMR = 0.2$$

L'indice de multirésistance (IMR) pour les souches étudiées est de 0.2. Cela signifie que, en moyenne, chaque souche est résistante à 20% des combinaisons d'antibiotiques testés.

Conclusion

Conclusion

En conclusion, notre étude révèle une diversité notable d'entérobactéries isolées à partir d'échantillons alimentaires, *Escherichia coli* étant la plus fréquente, suivie de *Proteus spp.*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* et *Enterobacter*. Les patterns de résistance aux antibiotiques varient selon les espèces, montrant des niveaux de résistance plus élevés chez *Escherichia coli* et *Proteus spp.* par rapport à *Klebsiella* et *Enterobacter*.

Ces résultats soulignent l'importance cruciale de surveiller de près la contamination par les Entérobactéries dans l'industrie alimentaire, tout en soulignant la nécessité de mettre en œuvre des mesures de contrôle rigoureuses pour garantir la sécurité des consommateurs. Étant donné la préoccupation croissante concernant la résistance aux antibiotiques, il est vital de surveiller attentivement ces tendances et de développer des stratégies efficaces pour prévenir la propagation de la résistance dans la chaîne alimentaire.

cette étude met en lumière les défis persistants associés à la contamination alimentaire par les Entérobactéries, soulignant l'importance continue de la recherche dans ce domaine pour assurer la sécurité alimentaire et protéger la santé publique.

Les résultats fournissent des informations essentielles pour guider les politiques et les pratiques de gestion des risques alimentaires, en mettant en avant la nécessité de surveiller attentivement la résistance aux antibiotiques et de promouvoir des pratiques de production alimentaire durables et sûres.

Références biobibliographiques

Références bibliographiques

- A.J., Parvathi, A., & Kumar, S. H. (2021). Bacterial resistance to antimicrobial agents. *AIMS Microbiology*, 4(3), 482.
- A.J., Parvathi, A., & Kumar, S.H. (2021). Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *AIMS Microbiology*, 4(3), 482.
- A.Y., Bhussar, M.K., & Doi, Y. Risk factors and outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37, 26-32.
- Amairi, T. (2021). Résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés des abattoirs et des élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie. *Thèse de doctorat*, Université Mohamed Khider de Biskra.
- Antibiotics (2021), 10, 593. <https://www.who.int/>
- Antibiotique-antibioresistance-le. Available online: <https://www.encyclopedie-environnement.org/sante/antibiotique-antibioresistance-le> (Accessed on: 17/08/2021).
- Antibiotiques en urologie. *Prog En Urol*. Nov 2013;23(15):1327-41. Available online: <https://www.bpifrance.fr/nos-actualites/paroles-dexperts-comment-lutter-contre-la-resistance-aux-antibiotiques>.
- *Applied and Environmental Microbiology*. (n.d.). Retrieved from <https://aem.asm.org/>
- Avril, J. M., Dabernat, H., & Monteil, D. H. (2000). *Bactériologie clinique* (3rd ed.). Paris: Ed Ellipses.
- Azmoun, S. (2016). Epidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques au CHU.
- Bakhoum, I. (2004). Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne (Doctoral dissertation). Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- Bébéar, C. (2006). *Bactériologie médicale*. Paris: Flammarion Medicine-Sciences.
- Benhiba, I., Bouzekroui, T., Zahidi, J., et al. (2015). Epidémiologie et antibiorésistance des infections urinaires à entérobactéries chez l'adulte dans le CHU Marrakech et implication thérapeutiques.
- Berche, P., Gaillard, J. L., & Simonet, M. (1988). *Bactériologie: Les bactéries des infections humaines*. Paris: Médecine-sciences Ed Flammarion.
- Berthuin, J., & Miras, M. Paroles d'experts: Comment lutter contre la résistance aux antibiotiques en urologie. *Prog En Urol*, 23(15), 1327-1341.

Références bibliographiques

- Bhussar, M. K., & Doi, Y. (2011). Risk factors and outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37, 26-32.
- Bidet, P., & Bingen, E. (2007). Enterobacteriaceae. In F. Denis, M.C. Ploy, C. Martin, E. Bingen, & R. Quentin (Eds.), *Bactériologie médicale: Techniques usuelles* (pp. 295-322). Paris: Ed Elsevier Masson.
- Bouazza, S., & Bouakka, N. (2016). Recherche des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi dans la viande rouge (Master's thesis). Université de Tébessa.
- Brown, K. (2020). *Foodborne pathogens: Hazards, risk analysis, and control*. John Wiley & Sons.
- Caniça, M., Manageiro, V., Abriouel, H., Moran-Gilad, J., Franz, C. M. A. P., & Pomba, C. (2019). Salmonella and antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food, and humans in the European Union: A trend analysis from 2014 to 2017. *Microorganisms*, 7(10), 19.
- Chaalal, W. (2013). Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires (Master's thesis). Université d'Es-Senia Oran.
- Chaussade, H., Sunder, S., Bernard, L., Coloby, P., Guy, L., & Karsenty, G. (2003). Les médicaments et antibiotiques.
- Courvalin, P. (2008). Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2796.2008.01940.x/full>
- Coustès, T. (2016). Loi d'avenir agricole, réglementation du médicament vétérinaire et lutte contre l'antibiorésistance (Doctoral dissertation). École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Cristian, C. (2008). *Microbiologie hygiène base microbiologiques de la diététique*. Paris: ED TEC & DOC Lavoisier.
- D'ACTIONS DANS DIFFERENTS TYPES D'ETABLISSEMENTS DE SANTE. d'État de Docteur en Pharmacie. P:4. Université De Lorraine.
- Davison, J. (1999). Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*, 42, 73-31.
- Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*.
- Dortet, L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2013). Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Feuillets de Biologie*, 312.
- Dubnau, D. (1999). DNA uptake in bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 53, 217-

244.

- Dutta, C., et al. (2002). Horizontal gene transfer and bacterial diversity.
- Farmer, J. J., Boatwright, K. D., & Janda, J. M. (2007). Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, & M. A. Tenover (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (p. 669).
- Fauchère, J. L., & Avril, J. L. (2002). *Bactériologie générale et médicale*. Paris: Ed Ellipses.
- Ferron, A. (1993). *Bactériologie médicale* (15th ed.). C et R.
- François, D., Marie-Cecile, P., Christian, M., & Edouard, B. (2007). *Bactériologie médicale. Techniques usuelles: 295-321*.
- Gadou, V. (2019). Épidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan, Côte d'Ivoire.
- Garcia, L. S., Isenberg, H. D., & Rubin, S. J. (2022). *Clinical microbiology procedures handbook*. American Society for Microbiology.
- Giedraitiene, A., Vitkauskiene, A., Naginiene, R., & Pavilionis, A. (2011). Antibiotic resistance.
- Grohs, P., Kernéis, S., Sabatier, B., Lavollay, M., Carbonnelle, E., Rostane, H., Souty, C., & Meyer, G.
- Guiraud, J. P. (1998). *Microbiologie alimentaire*. Dunod.
- Gutmann, L., & Mainardi, J. L. (2014). Fighting the spread of AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae: Beneficial effect of replacing ceftriaxone with cefotaxime. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69, 786-789.
- Gutmann, L., & Mainardi, J.L. (2014). Fighting the spread of AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae: beneficial effect of replacing ceftriaxone with cefotaxime. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69, 786-789.
- Hajje, Z., & Kamoun, S. (2016). Mécanismes de résistance bactérienne. *JCOR*.
- Iabadene, H., Messai, Y., Alouache, S., Arlet, G., & Bakour, R. (2010). Mécanismes de résistance aux β -lactamines et aux quinolones d'Enterobacter dans les hôpitaux d'Alger. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 4, 24.
- Ivain, L. (2017). Virulence et résistance aux antibiotiques du staphylocoque doré: recherche des ARNm ciblés par deux ARN régulateurs. Université De Rennes 1.
- Khouaja, A. (2019). Analyse génétique des procaryotes: La génétique bactérienne.

Références bibliographiques

- Kim, B. H., & Gadd, G. M. (2008). *Bacterial physiology and metabolism* (1st ed.). Cambridge University Press.
- Konare, S. (2017). Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées en 2016 au laboratoire médicale et hygiène hospitalière du CHU du point G. (Thèse de doctorat en pharmacie). Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako.
- Krumperman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(1), 165-170.
- Kumar, A., & Schweizer, H. P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1486-1513.
- Les impacts et pertinence des mesures de lutte. Thèse de doctorat vétérinaire, en ligne. Faculté de médecine de Créteil : ENVA; 2019 [cited 25 May 2022]. Available online: <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=376>.
- Lesseur, P. (2014). Antibiotiques: modes d'action, mécanismes de la résistance.
- Lezzar, N. (2017). Études comparatives des souches d'*Escherichia coli* aviaires et humaines. (Thèse de doctorat: Sciences vétérinaires). Université frères Mentouri Constantine1.
- Lin, C., et al. (2021). *Klebsiella pneumoniae*-induced Friedländer's pneumonia: Clinical features, diagnosis, and outcomes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 54(2), 258-265.
- Lithuanian. (2018). Mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (Kaunas)*, 47(3), 137-146. <https://microbeonline.com/author/srijana/>
- Lomovskaya, O., & Watkins, W. (2001). Inhibition of efflux pumps as a novel approach to combat drug resistance in bacteria. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 3(2), 225-236.
- Lozniewski, A., & Rabaud, C. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. *CCLIN*.
- Lucie, M. (2016). Antibiotiques et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156, 109-123.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson Education.

- Marrakech. (2021). Thèse du doctorat : Médecine. Université Cadi Ayad, 36p.
- Maurin, M. (2018). Antibiotiques, antibiorésistance et environnement. In *Encyclopédie de l'Environnement*.
- Mehdi, S. (2008). La fréquence des bactéries multi-résistantes à l'hôpital Hassan II de Settat.
- Michel-Briand, Y., & Chabert, Y. (2009). Une histoire de la résistance aux antibiotiques à propos de six bactéries. Paris: L'Harmattan.
- Michel-Briand, Y., & Chabert, Y. (2009). Une histoire de la résistance aux antibiotiques.
- Michel-Briand, Y., & Chabert, Y. (2009). Une histoire de la résistance aux antibiotiques à propos de six bactéries. Paris: L'Harmattan. P: 27-31.
- Minor, L., & Veron, M. (1989). *Bactériologie médicale* (2nd ed.). Flammarion Médecine-Sciences.
- Mohamed Amine Alioua. (2015). Les résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université De Lorraine.
- Mohamed Khider de Biskra. (2021). Résistance aux antibiotiques des Escherichia coli isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie. Thèse Doctorat. Université Mohamed Khider de Biskra.
- Morales-López, S., Yepes, J. A., Prada-Herrera, J. C., & Torres-Jiménez, A. (2019). Enterobacteria in the 21st century: a review focused on taxonomic changes. *Journal of Infection in Developing Countries*, 13(4), 265-273.
- Moussa, N., & Moussaoui, F. (2016). Recherche des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi dans les viandes de volaille. (Mémoire de Master: Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement). Université de Tébessa.
- Muller, A. (2017). Bon usage des antibiotiques: Résultats.
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2016). *Medical microbiology* (8th ed.). Elsevier.
- Muylaert, A., & Mainil, J. G. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur «contagiosité». *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156, 109-123.
- Nauciel, C., & Vildé, J. L. (2005). *Bactériologie médicale* (2nd ed.). Masson, Paris.
- Niang, O. (2003). Validation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires. (Thèse de pharmacie). Université Cheikh Anta DIOP.
- Nosobase recommandations. Available online: http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/cclin_arlin/cclinSudEst/2010_ResistanceA.

Références bibliographiques

- Pantel, A. (2016). Multirésistances des enterobacteries au antibiotiques et modulation de l'influx et l'efflux membranaires chez E.coli ST131.
- Pilet, C., Bourdon, J. L., Toma, B., & Marchal, N. (1979). Les entérobactéries. *Bactériologie médicale et vétérinaire: systématique bactérienne* (2nd ed.). Doins.
- Pomakova, D., et al. (2012). Clinical and microbiological characteristics of infections caused by Klebsiella oxytoca. *Journal of Medical Microbiology*, 61(2), 250-255.
- Poole, R. K. (2005). *The Enterobacteria*. ASM Press.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D., Wiley, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2010). Prescott's microbiology (9th ed.). New York: McGraw-Hill Education.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D., Wiley, J.M., Sherwood, L.M., & Woolverton, C.J. (2010). *Microbiologie* (3rd ed.). Groupe De Boeck S.A., Bruxelles.
- Qureshi, Z. A., Paterson, D. L., Pakstis, D. L., Adams-Haduch, J. M., Sandkovsky, G., Sordillo, E., Polsky, B., & Peleg, A. Y. (2011). Risk factors and outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacter cloacae bloodstream infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37, 26-32.
- Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria.
- Richardson, L. A. (2017). Understanding and overcoming antibiotic resistance. *PLOS Biology*, 15(8), e2003775.
- Roberts, C. L., Mshar, P. A., Cartter, M. L., Hadler, J. L., Sosin, D. M., Hayes, P. S., & Barrett, T. J. (1995). The role of heightened surveillance in an outbreak of Escherichia coli O157
- Savoye, F. (2001). Optimisation du protocole de recherche des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments.
- Singleton, P. (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie (6th ed.). Dunod.
- Smith, J., Jones, R., & Brown, L. (2023). Antibiotic resistance and foodborne illness: A global perspective. *Journal of Food Safety*, 15(2), 45-62.
- Souna, D. (2015). Étude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Enterobacter cloacae. (Thèse de doctorat). Université Abou Bekr Belkaid.
- Srijana, K. (2021). Antibiotic resistance: Origin, causes, mechanism. Retrieved from <https://microbeonline.com/author/srijana/>
- Tindall, B. J., Grimont, P. A. D., Garrity, G. M., & Euzéby, J. (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus Salmonella. *International Journal of Systematic and Evolutionary*

Microbiology, 55, 521-524.

- Toufik, Amairi. (2021). Résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie. Thèse Doctorat. Université Mohamed Khider de Biskra.
- Vaillant, V., Valk, H. D., Baron, E., Ancelle, T., Colin, P., Delmas, M.-C., Dufour, B., Pouillot, R., Strat, Y. L., & Weinbreck, P. (2005). Foodborne infections in France. *Foodborne Pathogens & Disease*, 2, 221-232.
- Varela, M. F., Stephen, J., Lekshmi, M., Ojha, M., Wenzel, N., Sanford, L. M., & Hernandez, A. J. (2021). Bacterial resistance to antimicrobial agents. *Antibiotics*, 10, 593.
- Versluys, S. B. B. (2019). L'antibiorésistance dans les principales filières de production: enjeux, impacts et pertinence des mesures de lutte. Faculté de médecine de Créteil : ENVA.
- Veysiere, A. (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux.
- Veysiere, A. (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires. *Thèse de doctorat en pharmacie*, Université de Marrakech.
- Walsh, C. (2003). *Antibiotics: Actions, origins, resistance*. Washington, DC: ASM Press.
- Walsh, C. (2003). *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*. Washington, DC: ASM Press.
- Wessels, M. R., & Nahm, M. H. (2018). *Bacterial capsules*. ASM Press.
- Wessels, M.R., & Nahm, M.H. (2018). *Bacterial Capsules*. ASM Press.
- Willey, J., Sherwood, L., & Woolverton, C. (2017). *Prescott's microbiology*. New York: McGraw-Hill Education.
- Willey, J., Sherwood, L., & Woolverton, C. (2017). *Prescott's Microbiology*. New York: McGraw-Hill Education.
- Wilson, B. (2010). *Bacterial pathogenesis: A molecular approach* (3rd ed.). ASM Press.
- Wilson, B. (2010). *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach* (3rd ed.). ASM Press.
- Wilson, M. (2019). *Microbial food safety: An introduction*. Springer.
- Wilson, M. (2019). *Microbial Food Safety: An Introduction*. Springer.

Annexes

Annexe 01 : Coloration de Gram.

Principe de la Coloration de Gram

La coloration de Gram est une méthode de classification des bactéries basée sur les propriétés de leur paroi cellulaire. Elle distingue principalement deux grands groupes de bactéries : les bactéries Gram-positives et les bactéries Gram-négatives.

Étapes de la Coloration de Gram

- Prélevez une petite quantité de l'échantillon bactérien et étalez-la finement sur une lamelle de microscope.
- Fixez l'échantillon en passant la lamelle rapidement à travers la flamme d'un bec Bunsen.
- Appliquez le violet de gentiane sur l'échantillon et laissez agir pendant 1 minute.
- Rincez doucement à l'eau distillée.
- Appliquez le lugol sur l'échantillon et laissez agir pendant 1 minute.
- Rincez doucement à l'eau distillée.
- Appliquez l'alcool sur l'échantillon pendant environ 20 secondes.
- Rincez immédiatement à l'eau distillée.
- Appliquez la fuchsine sur l'échantillon et laissez agir pendant 1 minute.
- Rincez doucement à l'eau distillée.
- Séchez la lamelle avec du papier absorbant.
- Observez l'échantillon au microscope en utilisant un objectif à immersion (généralement 100x).

Interprétation des Résultats

- **Bactéries Gram-positives:**
 - Retiennent le violet de gentiane et apparaissent violettes au microscope.
 - Exemples : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*.

- **Bactéries Gram-négatives:**

- Ne retiennent pas le violet de gentiane et apparaissent roses ou rouges après application du colorant de contraste.
- Exemples : *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*

Annexe 02 : les milieux utilisés.

Composition des milieux de culture (en g/L) (Guiraud, 2003)

Gélose Mac Conky

Peptone de caséine	17g
Peptone de viande.....	03g
Lactose.....	10g
Mélange de sels biliaires.....	1,5g
Chlorure de sodium... ..	05g
Rouge neutre	0,03g
Cristal violet... ..	0,001g

pH 7,4

Gélose Mueller Hinton

Infusion de viande debœuf.....	300g
Hydrolysate de caséine.....	17,5g
Amidon.....	1,5g
Agar.....	17g

pH 7,4

Milieu Urée-Indole

L-tryptophane 03g

Phosphate monopotassique.....	01g
Phosphate bipotassique	01g
Chlorure de sodium.....	05g
Urée.....	20g
Alcool à 95°	10ml
Rouge de phénol.....	0,025g

pH 7

Milieu Clark-Lubs

Peptone trypsique deviande.....	05g
Phosphate bipotassique	05g
Glucose.....	06g

pH 7

Mannitol- Mobilité

Peptone.....	20g
Nitrate de potassium.....	01g
Mannitol.....	02g

Rouge de phénole.....0,04g

pH 8,1

Milieu de Citrate de Simmons

Citrate de sodium..... 02g

Chlorure de sodium..... 05g

Sulfate de magnésium..... 0,2g

Phosphate monoammoniaque.....01g

Phosphate bipotassique 01g

Bleu de bromothymol..... 0,08g

Agar.....15g

pH 7.0- 7.2

Gélose TSI

Extrait de viande de bœuf..... 03g

Extrait de levure..... 03g

Peptone trypsique... ..20g

Chlorure de sodium.....	05g
Citrateferrique... ..	0.3g
Thiosulfate de sodium.....	0,3g
Lactose.....	10g
Glucose.....	01g
Saccharose.....	10g
Rouge de phénol.....	0,05g
Agar.....	12g

pH 7.4

Eau peptonée Peptone

exemple d'indole.....	15g
Chlorure de sodium.....	05g

pH 7,2

Annexe 03 : Tableau de lecture de la galerie API 10S.

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incoloré	jaune (1)
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUcose) (3)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune-gris
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose) (3)	bleu / bleu-vert	jaune
<u>LDC</u>	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<u>ODC</u>	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<u>CIT</u>	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (2)
<u>H₂S</u>	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incoloré / grisâtre	dépot noir / fin liseré
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	<u>TDA / immédiat</u> jaune marron-rougeâtre	
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	<u>JAMES / immédiat</u> incoloré vert pâle / jaune rose	
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	
NO ₂	(tube GLU)	-	production de NO ₂	<u>NIT 1 + NIT 2 / 2-5 min</u> jaune rouge	

Annexes 04 : Diamètres des zones édités par le CFA-SFM, 2010.

Antibiotique	Abréviation	Charge µg/ml	Ø critique (mm)	
			S	R
Amoxicilline	AMX	25	≥21	<16
Amoxicilline/ Clavulanate	AMC	20 /10	≥21	<16
Céfoxitine	FOX	30	≥22	<15
Céfotaxime	CTX	30	≥26	<23
Céftazidime	CAZ	30	≥26	<19
Céfépime	FEP	30	≥24	<17
Aztréonam	ATM	30	≥27	<21
Imipénème	IMP	10	≥24	<17
Acide nalidixique	NA	30	≥20	<15
Ciprofloxacine	CIP	5	≥25	<22
Gentamicine	GEN	15 (10UI)	≥18	<16
Amikacine	Ak	30	≥17	<15
Colestine	Col	50	≥15	<15

Annexes 05: Tableau de détail de profil d'antibio-résistance des différentes souches d'*E.coli*.

Souches	PEN	CTX	ERY	GEN	CLO	AMP	TET	LI N	IM P
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	S	I	I	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	S	R	S	R	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	S	R	S	R	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	I	R	S	R	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	I	I	S	I	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	S	S	S	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	S	S	S	S	S	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	S	S	R	R	R	R	S
<i>Esherichiacoli</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S

Annexes 06 : Tableau de détail de profil d'antibio-résistance des différentes souches d'*Proteus* species.

Souches isolées	PEN	CTX	ERY	GEN	CLO	AMP	TET	LIN	IMP
<i>Proteus ssp</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Proteus ssp</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Proteus ssp</i>	R	R	R	S	S	I	I	R	S
<i>Proteus ssp</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Proteus ssp</i>	R	S	R	S	S	R	R	R	S
<i>Proteus ssp</i>	R	S	R	S	S	R	R	R	S
<i>Proteus ssp</i>	R	R	R	S	S	I	I	R	S
<i>Proteus ssp</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S

Annexes 07 : Tableau de détails de profil d'antibio-résistance des différentes souches

Pseudomonas, Enterobacter et Klebsiella.

Bactéries	PEN	CTX	ERY	GEN	CLO	AMP	TET	LIN	IMP
<i>Pseudomonas</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Pseudomonas</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Pseudomonas</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Pseudomonas</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Pseudomonas</i>	R	S	R	S	S	R	R	R	S
<i>Pseudomonas</i>	R	S	R	S	S	I	I	R	S
<i>Pseudomonas</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Enterobacter</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Enterobacter</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Enterobacter</i>	R	R	R	S	S	I	I	R	S
<i>Enterobacter</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>Enterobacter</i>	S	S	R	S	R	R	R	R	S
<i>Enterobacter</i>	R	R	R	S	S	I	I	R	S
<i>Klebsiella</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Klebsiella</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	S
<i>Klebsiella</i>	R	R	R	S	S	I	I	R	S
<i>Klebsiella</i>	R	R	R	S	R	R	R	S	S
<i>Klebsiella</i>	S	S	R	S	R	R	R	R	S
<i>Klebsiella</i>	R	R	R	S	S	I	I	R	S