

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE –ALGER

PROJET DE FIN D'ETUDE

Pour l'obtention du

DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

Par

Nesrine AOUICHE et Fahima MOHAMMEDI

**Etude de la multi résistance aux antibiotiques des
différentes bactéries reçues au laboratoire de
microbiologie de l'E.N.S.V.**

Soutenu le 29/06 /2017 devant le jury composé de:

-Président : Mme HAFSI. Maitre de conférences classe A

-Promoteur : Mme AZZAG. Maitre de conférences classe A

-Examineur : Mr LAMARI. Maitre assistant classe A

-Examineur : Mme DERDOUR. Maitre assistant – Classe A

Avant propos

Nos premiers et sincères remerciements vont à Mme AZZAG pour avoir accepté de nous encadrer et nous accueillir au sein de son laboratoire de Bactériologie. On la remercie pour sa confiance, son soutien mais également pour ses qualités humaines.

On tient ensuite à remercier Mme HAFSI pour avoir bien voulu examiner ce mémoire et avoir fait l'honneur de présider le jury. Ainsi que nos examinateurs : Mme DERDOUR et Mr LAMARI pour avoir accepté de prendre en charge l'examen de ce modeste travail.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi à Mme BENEDEL S. pour nous avoir assistés tout au long de notre travail au laboratoire de bactériologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, qu'elle trouve ici l'assurance de toute notre reconnaissance.

Au terme de ce travail, il nous est particulièrement agréable d'adresser nos remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et leur soutien.

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects :

A mes parents : grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux. Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mes sœurs et à mes frères ainsi qu'à mes chers nièces et neveux que j'aime tellement.

A tous mes professeurs : leur générosité et leur soutien m'obligent de leur témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes

MOHAMMEDI Fahima

A mon père,

A ma mère,

A Samir,

A Adel,

A mes

deux sœurs,

Kahina et Amina

A ma petite Sofia

Et à tous ceux qui me sont chers

AOUCHE Nesrine.

4.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	12
4.3.1. Mécanismes non enzymatiques.....	12
4.3.1.1.L'imperméabilité : « Résistance par diminution de la pénétration d'un antibiotique ».....	12
4.3.1.2.Systèmes d'efflux : « Résistance par augmentation de l'excrétion d'un antibiotique ».....	12
4.3.1.3.Altération des cibles d'antibiotiques.....	13
4.3.1.4.Résistance par absence de site d'action.....	13
4.3.2. Mécanismes enzymatiques.....	13
4.3.2.1.Les enzymes inactivant les phénicolés	13
4.3.2.2.Les enzymes inactivant les aminosides.....	13
4.3.2.3.Les enzymes inactivant les β -lactamines	14

II. LES PRINCIPALES PATHOLOGIES D'ORIGINE BACTERIENNE DANS LE DOMAINE VETERINAIRE

1. Principales zoonoses bactériennes.....	15
1.1 Brucellose	15
1.2 Tuberculose.....	15
1.3 Charbon	15
1.4 Tularémie	16
1.5 La morve	16
1.6 La Mélioïdose	17
1.7 Psittacose-ornithose.....	17
1.8 Les salmonelles.....	17
1.9 Pasteurellose	17
1.10 Les leptospires	18
1.11 Maladie de Lyme	18
1.12 La peste	19
1.13 Les campylobactéries	19
1.14 Listériose.....	19

1.15 Plaies de morsures et de griffures par des carnivores : Pasteurelles et autres germes de surinfection.....	19
2. Les pyodermites cutanéomuqueuses chez le chien.....	20
3. Les otites chez le chien.....	20
4. Les Infections intra mammaires chez les bovins.....	21

CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES

I. NATURE ET ORIGINE DES ECHANTILLONS.....	22
1. Prélèvement Auriculaire	22
2. Prélèvement à partir d'abcès	22
3. Prélèvement à partir de plaie infectée	22
4. Prélèvement à partir d'organes	23

II. ISOLEMENT ET CONSERVATION DES SOUCHES MICROBIENNES

1. Enrichissement des cultures bactériennes.....	23
2. Isolement	23
3. Conservation des microorganismes.....	24

III. IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTÉRIENNES

1. Tests d'orientation.....	24
1.1. Examen microscopique et coloration de Gram.....	24
1.2. Tests d'orientation culturaux et physiologiques.....	25
1.2.1. Caractérisation sur Milieu Chapman.....	25
1.2.2. Caractérisation sur Milieu Hektoen	26
1.2.3. Ensemencement des souches sur ces milieux.....	26
2. Tests biochimiques - galeries Api	27
2.1. La galerie API-Staph.....	27
2.2. La galerie API-20 ^E	27

IV. PROFIL DE SENSIBILITÉ DES SOUCHES BACTÉRIENNES AUX ANTIBIOTIQUES.....	29
--	-----------

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

I. PRELEVEMENT.....	30
II. IDENTIFICATION DES SOUCHES	31
1. Analyse microscopique.....	31
2. Étude des caractères cultureux et physiologiques.....	32
3. Analyse biochimique par galerie rapide.....	33
III. SENSIBILITE DES SOUCHES ISOLEES AUX ANTIBIOTIQUES....	36
1. L'étude de la sensibilité des Staphylocoques aux antibiotiques.....	36
2. L'étude de la sensibilité des streptocoques aux antibiotiques.....	38
3. L'étude de la sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques.....	40
4. L'étude de la sensibilité des souches restantes aux antibiotiques.....	42
IV. DISCUSSION.....	43
V. CONCLUSION.....	46
VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	48
VII. ANNEXE.....	52

Résumé

L'objectif du présent travail est d'étudier le profil de sensibilité et de résistance aux antibiotiques des bactéries associées à des maladies vétérinaires. Quarante quatre échantillons issus de prélèvements auriculaires, nasaux et cutanés de différentes espèces animales ont été étudiés. L'identification des espèces bactériennes isolées à partir des échantillons récoltés a été faite en se basant sur différentes approches (étude morphologique, biochimique et physiologique) par tests classiques et galeries rapides. Les résultats de l'identification montrent une forte prévalence des atteintes par les Staphylococques, Streptococques et les Entérobactéries. L'étude du profil de sensibilité de ces bactéries aux antibiotiques a révélé un caractère de multi-résistance chez de nombreuses souches étudiées. Ces résultats concordent parfaitement avec d'autres études antérieures ayant pour objectif l'orientation des cliniciens dans le choix de l'antibiothérapie.

Abstract

The objective of this work is to study the sensitivity profile of bacteria involved in veterinary diseases to antibiotics commonly used in veterinary therapy. Ninety-four samples from auricular, nasal and cutaneous samples from different animal species were studied. The identification of the bacterial species isolated from the harvested samples was based on different approaches (morphological, biochemical and physiological study) by classic tests and API identification system. The results of the identification show a high prevalence of infections by Staphylococci, Streptococcus and Enterobacteriaceae. The study of the sensitivity profile of these bacteria to antibiotics revealed that many strains studied are multiresistant to antibiotics. These results agree well with other previous studies aimed orientation clinicians in the choice of antibiotic therapy.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة حساسية البكتيريا المتسببة في الأمراض البيطرية للمضادات الحيوية التي تستخدم عادة في العلاج البيطري. تمت دراسة أربعة وثمانون عينة الأذن، والأنف والجلد من أنواع حيوانية مختلفة. تم تحديد الأنواع البكتيرية المعزولة من العينات باختبارات مختلفة (دراسة المورفولوجية، والكيمياء الحيوية والفسولوجية) عن طريق تقنيات تحديد النوع Staphylococques tests classiques et galerie API (تبين نتائج تحديد النوع ارتفاع معدل انتشار الاصابات بالبكتيريا). Streptococques و Enterobactéries. كشفت دراسة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية سلالات معتبرة متعدد المقاومة للمضادات الحيوية. تتفق هذه النتائج بشكل جيد مع دراسات سابقة أخرى تهدف لتوجيه الأطباء في اختيار المضاد الحيوي.

Introduction

Introduction

Suite à la découverte en 1928 de la pénicilline, plusieurs autres molécules bioactives ont été mises au point et la lutte contre les pathologies infectieuses a pris alors de plus en plus d'importance pour atteindre son apogée au cours des années 1970. Durant les deux dernières décennies, plusieurs travaux publiés, y compris en Algérie, ont signalé l'apparition de nouvelles souches bactériennes résistantes ou multirésistantes aux antibiotiques cliniquement utilisés, dont certains sont des molécules très récentes (3ème et 4ème générations d'antibiotiques) (Touati, 2006; Aggoune-Khinache *et al.*, 2008; Messai *et al.*, 2008). En effet, récemment un nouveau gène dénommé NDM-1 a été découvert chez plusieurs entérobactéries leur permettant de synthétiser une enzyme inactivant la plupart des antibiotiques présents dans le marché provoquant ainsi un véritable danger sanitaire et une éventuelle impasse thérapeutique (Durand-Parenti, 2010). Cette résistance bactérienne constitue de nos jours une préoccupation sanitaire internationale, tant pour la santé humaine que pour la santé animale.

Pour les vétérinaires, l'enjeu est double. En plus de se préoccuper de la santé animale, ils doivent aussi avoir un objectif de santé publique. Il est à noter que la persistance de médicaments efficaces en élevage est indispensable pour assurer la santé et le bien-être animal, préserver l'économie de ces filières et limiter les risques de contaminations zoonotiques.

Depuis une vingtaine d'années, les risques sanitaires et sociétaux liés au développement de ces résistances ont amené les spécialistes de la santé publique à élaborer des programmes de surveillance de l'évolution de la résistance des microorganismes aux antibiotiques et mettre en place des mesures préventives ayant pour objectif à la fois d'utiliser moins et mieux les antibiotiques.

L'objectif de ce travail est d'étudier le profil de sensibilité, aux antibiotiques d'intérêt clinique, de plusieurs bactéries isolées à partir de prélèvements d'infections auriculaires, nasales et cutanées et d'identifier les microorganismes responsables des maladies les plus fréquentes en médecine vétérinaire.

Ce manuscrit est structuré en trois chapitres : « Revues bibliographiques » exposant les principaux antibiotiques utilisés en thérapie, leurs mécanismes d'action et le phénomène de la résistance bactérienne, « Matériel et Méthodes » montrant les principales méthodes utilisées en expérimentation et enfin le chapitre « Résultats et Discussion ».

Partie I

Revue Bibliographique

I. LES ANTIBIOTIQUES

Un antibiotique est une substance naturelle, synthétique ou semi-synthétique qui à très faible concentration tue ou inhibe la croissance bactérienne par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Dans le premier cas, on parle d'antibiotique bactéricide et dans le second cas d'antibiotique bactériostatique. Les antibiotiques sont des molécules non actives contre les virus. Ils n'accélèrent pas la guérison et ne protègent nullement contre l'infection virale.

1. Classification des antibiotiques

Les molécules antibiotiques se différencient par leur structure chimique, leur mode d'action, leur spectre d'action, leurs effets secondaires et leur origine. C'est pourquoi il existe plusieurs types de classification basée sur ces critères.

1.1. Classification d'après leur structure chimique

D'après leur structure chimique souvent complexe et de nature très variée, Berdy *et al.* (1987, 2005) proposent un système de classification ouvert à tous les antibiotiques. Ce système les répartit dans neuf grandes familles chimiques (Figure 01) et il est le plus utilisé en recherche fondamentale.

Il est à noter que ce type de classification met à l'écart tout intérêt thérapeutique et clinique, c'est pour cela qu'il existe aussi d'autres variantes de classer les antibiotiques.

1.2. Autres types de classification

Dans le domaine pharmaceutique et médical où la classification chimique importe peu ; d'autres types de classifications sont utilisés. Les composés bioactifs peuvent être classés en fonction de leur spectre d'action, de leur type d'action, de leur mode d'action, de leur origine ou encore de leur charge électrique :

Selon leur spectre d'action, les antibiotiques peuvent avoir un spectre large, moyen, ou très étroit.

Selon leur type d'action, les antibiotiques peuvent être bactéricides ou fongicides comme ils peuvent être bactériostatiques ou fongistatiques.

Selon leur mode d'action, les antibiotiques sont classés selon la cible moléculaire sur laquelle ils se fixent.

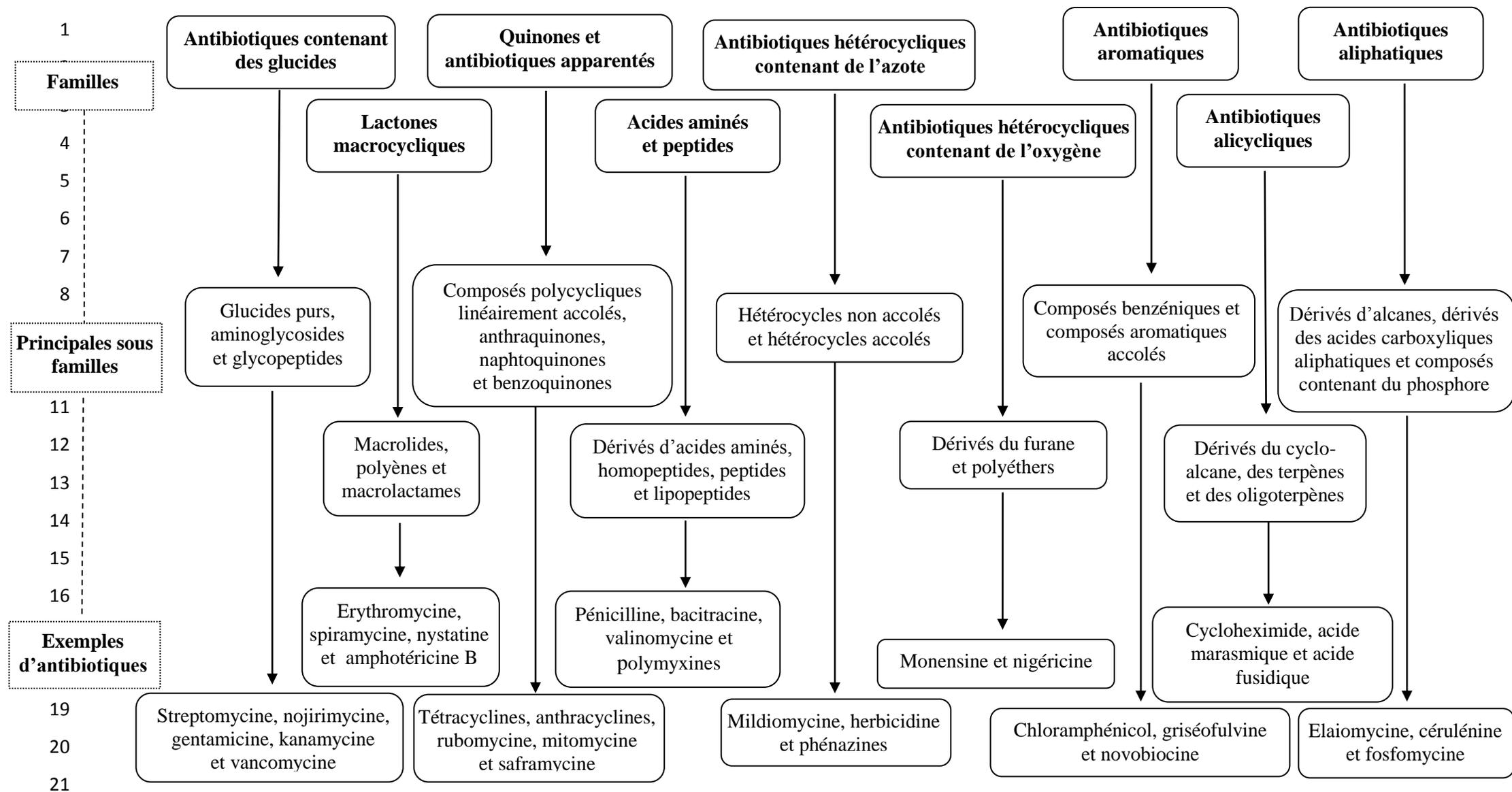


Figure 01. Classification des antibiotiques selon leur structure chimique (Berdy *et al.*, 1987; Berdy, 2005)

Selon leur origine, les antibiotiques peuvent être élaborés par divers organismes vivants. Ils peuvent être d'origine fongique (ex: pénicillines), bactérienne (ex: bacitracine) ou encore végétale.

Selon leur charge électrique, les antibiotiques peuvent être à caractère acide (ex: pénicilline), basique (ex: aminosides) ou neutre (ex: nogalamycines, mutactimycines) (Berdy *et al.*, 1987, 2005; Lamari, 2006).

2. Source d'antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être d'origine naturelle, hémi-synthétique ou purement synthétique.

2.1. Antibiotiques d'origine naturelle

La pénicilline fut découverte en 1928 par Alexander Fleming, à partir d'un champignon nommé : *Penicillium notatum* ; depuis cet exploit, les recherches se sont lancées sur d'autres microorganismes.

Waksman passa au crible des milliers de microorganismes ; aidé par Schatz et Bugie, il découvrit la streptomycine en 1944 dans des cultures de *Streptomyces griseus*. Ensuite, il découvrit d'autres antibiotiques importants tels que l'actinomycine, la griséine et la néomycine. Par la suite d'autres antibiotiques majeurs furent découverts tels que la polymyxine B (1947) produite par *Bacillus polymyxa*, le chloramphénicol (1948) sécrété par *Streptomyces venezuelae*, la tétracycline (1948), l'érythromycine (1952), la vancomycine (1956), la kanamycine (1957), la lincomycine (1962), etc., élaborés par diverses espèces de *Streptomyces*.

2.2. Antibiotiques d'origine synthétique

Les travaux d'Ehrlich sur les substances tinctoriales avaient marqué la recherche pharmacologique de la fin du 19^{ème} siècle et début du 20^{ème} siècle ; de même des colorants de type sulfamides ont été synthétisés en 1908 par Gelmo et en 1919 par Heidelberger et Jacobs. C'est grâce à Gerhard Domagk, que l'action antimicrobienne de la sulfamidochrysoïdine fut découverte au début des années 1930. Il l'a découverte alors qu'il recherchait des substances chimiques toxiques pour les bactéries, cela a ouvert la voie à l'utilisation des sulfamides en chimiothérapie anti-infectieuse.

D'autres agents antibactériens ont été synthétisés, comme les 5-nitrohétérocycles comprenant le 5-nitrofuryle (1944), les 5-nitroimidazoles dont le métronidazole (1959), l'éthionamide en (1956), le triméthoprim (1957), les pénèmes (1977), l'acide nalidixique (1962) et les fluoroquinolones à la fin des années 1970 (*in* Bergogne-Berezi et Dellamonica, 1999).

2.3. Antibiotiques d'origine héli-synthétique

L'hémisynthèse consiste à utiliser une molécule naturelle comme point de départ et à effectuer sur celle-ci des modifications artificielles en vue d'obtenir des dérivés ayant des performances plus élevées par rapport à la molécule de départ.

Beaucoup d'antibiotiques sont fabriqués industriellement par hémisynthèse à partir d'un substrat commun. L'acide 6-aminopénicillanique est une pénicilline naturelle obtenue à partir de *Penicillium*. Elle est rattachée à un radical (R) qui représente les diverses protéines susceptibles d'être greffées (Figure 02). Ce greffage est réalisé afin de diversifier le champ d'action de la pénicilline naturelle. En effet, certaines bactéries résistantes produisent une enzyme (pénicillinase) pour ouvrir le cycle Béta-lactame et rendre ainsi inactive la pénicilline naturelle. Des pénicillines d'hémisynthèse tel que la méticilline et l'oxacilline résistent à la pénicillinase (Milcent, 2003).

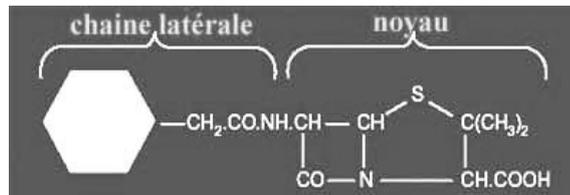


Figure 02. Structure chimique d'une pénicilline d'hémisynthèse mettant en évidence le noyau commun naturel (acide 6-aminopénicillanique) et le radical greffé (<http://www.microbes-edu.org/>).

3. Les Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules qui agissent sur des cibles spécifiques stoppant ainsi la prolifération microbienne en inhibant une étape primordiale de leur développement à des niveaux différents du processus métabolique. Selon sa nature, l'antibiotique peut bloquer la synthèse de la paroi, la membrane plasmique, la synthèse des acides nucléiques ou encore la synthèse protéique empêchant ainsi leur survie et leur cycle de reproduction.

La Figure 03 ci-dessous illustre les différents sites d'action des antibiotiques chez la bactérie.

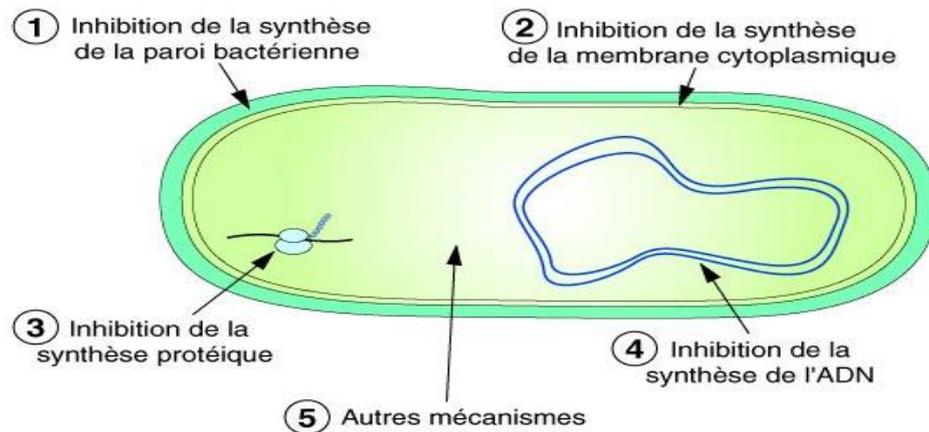


Figure 03. Schéma illustrant les différents sites d'action des antibiotiques (<http://www.123bio.net/>)

3.1. Action sur la synthèse pariétale

Les bactéries et les fungi disposent d'une paroi protectrice. L'élément essentiel qui la caractérise chez les bactéries est la muréine, appelé aussi peptidoglycane, qui est un polymère complexe constitué de sucres aminés et tétrapeptides reliés par différents types de liaisons chimiques. Chez les fungi, la constitution de la paroi est différente. Elle est riche en chitine, en glucanes et d'autres polysides selon les espèces, tels que les chitosanes chez les Mucorales et les mannanes chez les levures (Leyral et Vierling, 2007 ; Lansing et *al.*, 2010). Les antibiotiques qui agissent sur la paroi, entravent le déroulement normal de sa synthèse et exposent ainsi le microorganisme aux différents facteurs de stress externes, notamment la pression osmotique qui conduit à la lyse cellulaire (Lansing et *al.*, 2010).

Les antibiotiques antibactériens (β -lactamines, cyclosérine, fosfomycine et glycopeptides) agissent sur la synthèse pariétale empêchent l'insertion des acides aminés formant le tétrapeptide muréique ou en empêchant l'insertion de ce dernier au niveau de la muréine (Asselineau et Zalta, 1973).

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse pariétale fongique (ex.: échinocandines) bloquent la synthèse des glucanes pariétaux, essentiels à la paroi cellulaire fongique, entraînant ainsi un déséquilibre osmotique puis la lyse de la cellule fongique (Asselineau et Zalta, 1973; Carle, 2003).

3.2. Action sur la membrane plasmique

La membrane cellulaire représente une entité primordiale et vitale chez tout microorganisme. Elle est constituée d'une double couche phospholipidique et de protéines qui lui sont associées (Figure 04.).

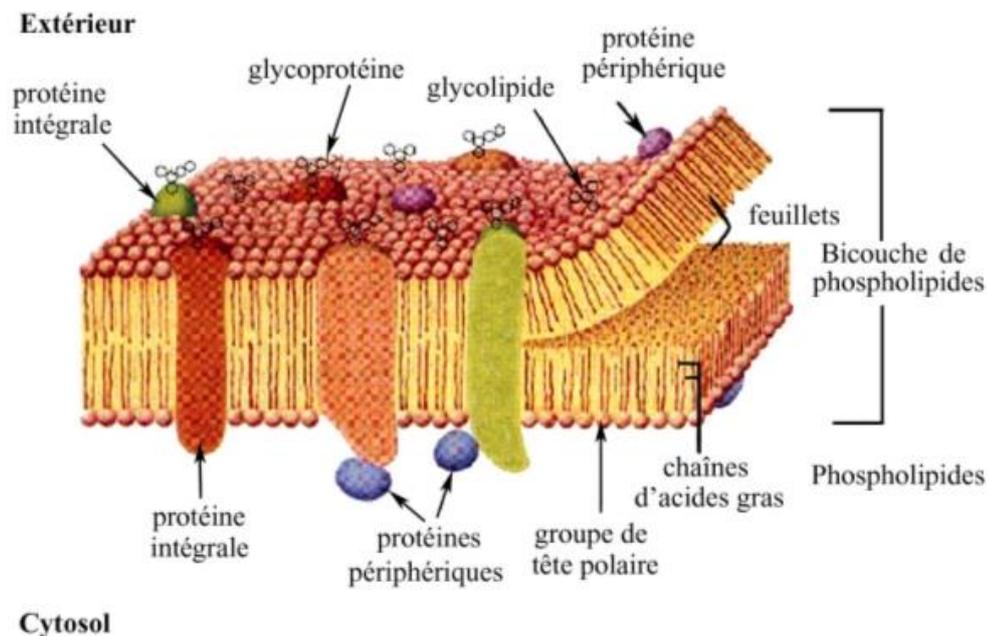


Figure 04. Représentation schématique de la bicouche phospholipidique qui constitue la structure fondamentale des membranes biologiques. (Adapté de Darnell et al. 1993).

La membrane cytoplasmique est une barrière sélective permettant de maintenir les métabolites et les ions à l'intérieur du microorganisme. Elle est aussi impliquée dans la stabilisation du gradient de protons qui permet l'emmagasinement de l'énergie cellulaire (Prescott et al, 2002). Certains antibiotiques visent à rompre cette membrane provoquant la dispersion de l'énergie chimio-osmotique et la fuite du contenu cytoplasmique au milieu extracellulaire rendant toute survie bactérienne impossible.

Ces antibiotiques peuvent être antibactériens (ex.: polymyxines) ou antifongiques (ex.: amphotéricine B et nystatine). Ces derniers, agissent sur les stérols de la membrane plasmique eucaryote, nécessaires à l'intégrité de la membrane cellulaire, conduisant ainsi à la formation de pores provoquant une augmentation de la perméabilité avec perte du contenu cytoplasmique puis la mort de la cellule fongique (Carle, 2003 ; Sylvie et Pharm 2003 ; Hulin et al. 2005).

Les polymyxines pénètrent les membranes bactériennes grâce à leur caractère amphiphile et s'incorporent aux couches lipidiques par l'intermédiaire de leur extrémité hydrophobe (acide gras) alors que l'extrémité hydrophile reste à l'extérieur. Cette action a pour effet la désorganisation membranaire et la mort cellulaire (Prescott et *al*, 2002).

3.3. Action sur les acides nucléiques

Les acides désoxyribonucléiques (ADN) constituent le support d'information génétique. L'acide ribonucléique (ARN) intervient essentiellement comme support intermédiaire des gènes lors de la synthèse protéique. Cela montre l'importance vitale des acides nucléiques (ADN et ARN) pour toute entité biologique vivante.

Les antibiotiques qui ont une action sur la synthèse des acides nucléiques ciblent l'une des étapes majeures (la synthèse d'ADN et sa réplication, la transcription d'ADN en ARN). Parmi ces antibiotiques, les quinolones et fluoroquinolones qui agissent en se liant au complexe ADN-ADN gyrase bactérienne, ce qui a pour effet d'inhiber la gyrase (indispensable à l'ouverture de la double hélice). Ceci inhibe la réplication de l'ADN, donc la division bactérienne. La mitomycine et l'acide nalidixique empêchent respectivement la réplication de l'ADN (en se fixant sur les deux brins d'ADN) et sa synthèse (par inhibition de l'incorporation de la thymine). L'actinomycine empêche la transcription de l'ADN en ARN messager (Asselineau et Zalta, 1973 ; Prescott et *al*, 2002 ; Lansing et *al.*, 2010).

3.4. Inhibition de la synthèse des protéines

La synthèse protéique constitue également une étape vitale pour les cellules microbiennes. L'ARN messager est traduit en protéines (protéines structurales, enzymatiques, de transport) au niveau des ribosomes.

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique agissant sur les ribosomes, comme c'est le cas des macrolides, des tétracyclines et du chloramphénicol. Au niveau du ribosome, ces antibiotiques peuvent empêcher la fixation de l'ARN de transfert porteur d'acides aminés, la translocation et la transpeptidation. D'autres antibiotiques (ex. streptomycine) provoquent des erreurs de lecture du code génétique (Asselineau et Zalta, 1973).

Le ribosome est un très gros assemblage de plusieurs protéines et d'ARN ribosomiaux (ARNr), composé de deux sous-unités ; une grande et une petite. Ces deux sous-unités s'assemblent et forment, à leur interface, une « tête de lecture » capable de décoder l'ARN messager (Figure 05). Certains antibiotiques agissent sur la petite sous-unité (30S) ribosomale

(ex : aminosides, cyclines et glycylyclines) et d'autres sur la grande sous-unité ribosomale (50S) comme les macrolides, les oxazolidinones, les acides fusidiques et les phénicolés.

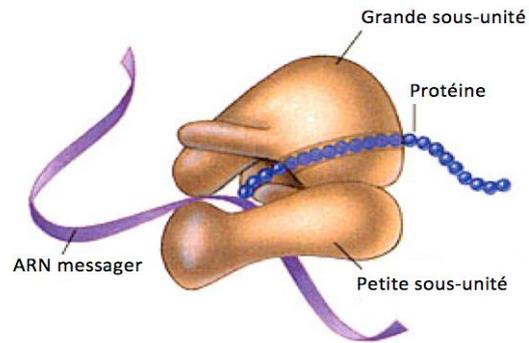


Figure 05. Schéma illustrant la structure du ribosome (<https://ed414-openlab.unistra.fr/>)

4. Résistance aux antibiotiques

4.1. Phénomène de la résistance et la multi résistance aux antibiotiques

L'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire est rigoureusement contrôlé, cela s'explique par le fait que l'antibiothérapie animale compte un ensemble de contraintes pouvant se répercuter sur la santé humaine consommateur. L'une de ces contraintes, engendrées par une antibiothérapie prolongée, est l'émergence du phénomène d'antibiorésistance avec apparition de souches bactériennes parfois multirésistantes aux antibiotiques. Cela rend la lutte contre les infections et les maladies d'origine microbienne très difficile avec échecs thérapeutiques conduisant souvent à la mort de l'animal et l'émergence de pathogènes pour l'Homme. En effet, ce phénomène est très fréquent, illustrant parfaitement l'ampleur des conséquences à long terme d'une antibiothérapie mal menée.

La résistance des microorganismes aux antibiotiques est un phénomène connu depuis très longtemps à évolution perpétuelle, sous l'effet de la pression de sélection des antibiotiques, et accéléré par l'usage intensif et automatique de ces molécules. De nombreux travaux et publications dans le monde et en Algérie font état de la constante évolution du phénomène de l'antibiorésistance signalant même l'apparition de nouvelles souches bactériennes multirésistantes aux antibiotiques cliniquement utilisés, dont certains sont des céphalosporines de troisième et quatrième générations (Touati et *al.*, 2006 ; Messai et *al.*, 2008 ; Sekhsokh et *al.*, 2008 ; Kumarasamy et *al.*, 2010). En effet, il faut remonter à l'époque des années 1940 pour constater que très peu de temps après le début de l'usage thérapeutique de la pénicilline, il a été enregistré antibiorésistance sur des souches de staphylocoques (Mary barber, 1946).

4.2. Types de résistance aux antibiotiques

4.2.1. La résistance naturelle

La résistance d'une espèce ou d'un genre bactérien donné qui ont la capacité de résister à un antibiotique. Le support de cette résistance est chromosomique (Lansing et *al.*, 2010).

4.2.2. La résistance acquise

La résistance acquise est la capacité d'une souche bactérienne à résister à une concentration d'antibiotique, beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce bactérienne (Schwarz et Chaslus, 2001). C'est une propriété de souche ; cette résistance peut être acquise soit par mutation chromosomique (20% des cas) soit par acquisition de matériel génétique exogène (transfert de plasmides conjugatifs ou de transposons) (Yala *et al.*, 2001; Barrial *et al.*, 2005; Lansing *et al.*, 2010).

4.2.2.1. Résistance par mutation chromosomique

C'est un phénomène rare, mis en cause dans une toute petite partie des résistances rencontrées en clinique. Souvent, l'augmentation de la résistance se fait progressivement par plusieurs mutations chromosomiques successives. Cependant, il est possible qu'une seule mutation chromosomique puisse induire une augmentation très importante de l'antibiorésistance. La diffusion de ce type de résistance est étroitement liée à la nature de la souche bactérienne mutante (Demerc, 1948).

4.2.2.2. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène

Contrairement à la mutation chromosomique où l'on a une augmentation par paliers de la résistance, l'acquisition de matériel génétique exogène permet l'apparition d'une augmentation brusque de la résistance. Cette acquisition de nouveaux gènes se fait par l'intermédiaire de plasmides ou de transposons par trois mécanismes : la conjugaison, la transformation et la transduction.

La conjugaison peut s'effectuer entre deux bactéries de même espèce ou bien entre deux bactéries d'espèces différentes mais compatibles. Elle a pour principe, le transfert d'une copie du plasmide porteur des gènes de résistance par l'intermédiaire des pili sexuels (Lederberg, 1946)

La transformation est un autre phénomène qui a généralement lieu entre bactéries de genres proches pour permettre la recombinaison. Il a pour principe l'obtention de nouveaux gènes de résistance par le réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries (Griffith, 1928).

Enfin, la transduction se fait par la transmission de séquences d'ADN entre différentes bactéries et ce par l'intermédiaire d'un virus "bactériophage". Ce mécanisme n'a lieu que pour des bactéries de la même souche vue la spécificité des bactériophages (Lwoff, 1950.).

4.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Pour survivre, la bactérie tente d'échapper à l'action des antibiotiques par différentes stratégies, ces dernières peuvent être classées en deux types principaux : des mécanismes non enzymatiques (intrinsèques) et des mécanismes enzymatiques. (Voir figure 06).

4.3.1. Mécanismes non enzymatiques

Parmi les mécanismes non enzymatiques qu'utilise la bactérie pour sa survie : l'imperméabilité, la modification de la cible d'antibiotique, les systèmes d'efflux et la résistance par absence de site d'action.

4.3.1.1. L'imperméabilité : « Résistance par diminution de la pénétration d'un antibiotique »

L'existence de l'enveloppe hydrophobe externe chez les bactéries permet une résistance naturelle à plusieurs antibiotiques hydrophiles cela est dû au composant lipopolysaccharidique (LPS) présent sur les enveloppes des bactéries à Gram négatif (Cavallo *et al.*, 2004). Des mutations peuvent entraîner des modifications quantitatives ou qualitatives de l'expression des porines. Ces dernières sont des protéines possédant des canaux centraux qui permettent le passage de molécules hydrophiles de petite taille comme les β -lactamines, les aminosides et les phénicolés. Leur inactivation ou la diminution de leur nombre est responsable de la résistance acquise à plusieurs familles d'antibiotiques par diminution de la diffusion des antibiotiques (Carvallo *et al.*, 2004).

4.3.1.2. Systèmes d'efflux : « Résistance par augmentation de l'excrétion d'un antibiotique »

Ce mécanisme est actif chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Il consiste à l'expulsion des antibiotiques hors de la cellule bactérienne, mais il existe surtout chez les bactéries n'ayant pas un système de dégradation intracellulaire, possédant des protéines membranaires qui induisent une augmentation de l'excrétion de l'agent

antibactérien et par conséquent l'augmentation de la résistance à ce dernier (Cavallo et *al.*, 2004).

4.3.1.3. Altération des cibles d'antibiotiques

Si la cible est modifiée de telle manière que l'antibiotique ne puisse pas s'y fixer, la bactérie acquiert une résistance qui s'étend souvent à toute la famille de l'antibiotique à cause d'une moindre affinité (Fauchère et Avril, 2002; Cavallo et *al.*, 2004).

Le ribosome est le siège de la synthèse protéique et en même temps le site de fixation de quelques antibiotiques provoquant l'arrêt de la synthèse protéique. La modification acquise de celui-ci par mutation, diminue l'affinité du site de fixation de l'antibiotique et rend la bactérie résistante (Fauchère et Avril, 2002).

4.3.1.4. Résistance par absence de site d'action

C'est une résistance naturelle par absence du site d'action. Par exemple, Les bactéries résistent naturellement aux antifongiques par absence de stéroïdes et les champignons résistent aux pénicillines par absence de peptidoglycane.

4.3.2. Les mécanismes enzymatiques

Ces mécanismes consistent à synthétiser des enzymes qui ont le pouvoir de réduire ou carrément inactiver l'antibiotique. Parmi ces enzymes, celles inactivant les aminosides, les phénicolés et les β -lactamines (Cavallo et *al.*, 2004).

4.3.2.1. Les enzymes inactivant les phénicolés

La production d'une chloramphénicol acétyltransférase plasmidique est souvent la cause de la résistance au chloramphénicol. Cette substance est détectée chez certaines espèces d'entérobactéries telles que *Salmonella typhi* et *Pseudomonas* et *Yersinia* (Cavallo et *al.*, 2004). Mais il peut exister aussi, une résistance au chloramphénicol par le biais d'une nitroréductase (Smith et Erwin, 2007).

4.3.2.2. Les enzymes inactivant les aminosides

Ces enzymes sont classées en trois catégories d'après la réaction produite: aminoside acétyltransférases, aminoside adényltransférases et aminoside phosphotransférases; seules ces dernières confèrent un haut niveau de résistance (Cavallo et *al.*, 2004).

4.3.2.3. Les enzymes inactivant les β -lactamines

Plusieurs bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* produisent des enzymes inactivant les antibiotiques. Ces bactéries présentent une résistance naturelle aux aminopénicillines (Ampicilline-Amoxicilline) et aux carboxypénicillines, due à une pénicillinase constitutive, c.à.d produite constamment et indépendamment de la présence de l'antibiotique (Cattoir, 2004).

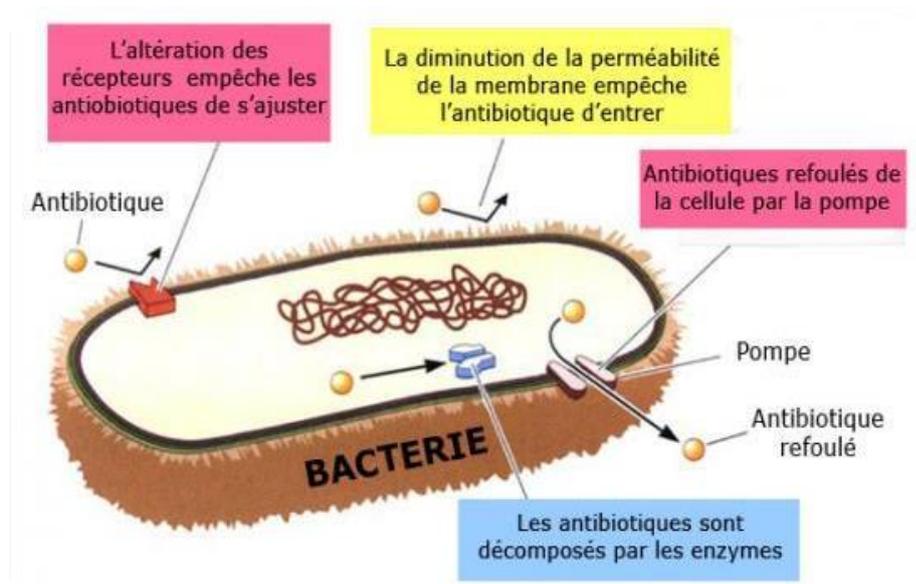


Figure 06. Schéma illustrant les principaux mécanismes mis en œuvre par les microorganismes dans la résistance aux antibiotiques. Source : www.antibiotique.eu

III. LES PRINCIPALES PATHOLOGIES BACTERIENNES IMPLIQUEES DANS LA MEDECINE VETERINAIRE

1. Les principales zoonoses bactériennes

1.1. La brucellose

La brucellose est la zoonose la plus répandue dans les pays en voie de développement. Elle est due aux bactéries du genre *Brucella*. Les espèces animales les plus touchées sont les bovins, les ovins et les caprins (Bernard Toma ;2011).

La brucellose humaine est une maladie à déclaration obligatoire. Les cas autochtones sont actuellement très rares, comme dans l'ensemble des pays ayant mis en place des programmes de lutte, initialement par la vaccination puis par abattage des porteurs latents. L'impact économique de cette pathologie en productions animales étant important.

Chez le chien, la brucellose à *Brucella canis* a été rapportée pour la première fois en 1966 aux Etats Unis alors que chez le chat la brucellose n'a jamais été décrite.

Les contaminations humaines sont réputées rares et la maladie chez l'Homme est moins sévère que les brucelloses à *Brucella abortus* ou *Brucella melitensis* ou *Brucella suis*. (Henri-Hubert Mollaret, 1990)

1.2. La tuberculose

Les tuberculoses humaines et animales sont des maladies d'origine bactérienne dues à des bacilles du genre *Mycobacterium* appartenant au complexe *tuberculosis*. L'unique espèce génomique *M. tuberculosis* comprend des groupes de souches correspondant à différents pathovars ayant des spectres d'hôtes différents (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* (Smith et al., 2009)).

Cette maladie est rare chez les animaux de compagnie. Toutefois, elle est actuellement en recrudescence chez des chiens appartenant à des propriétaires sans abris. (Office International des Épizooties, 1970)

1.3. Le charbon

Le charbon, dénommé anthrax en anglais, est une maladie essentiellement vétérinaire. Elle touche tous les mammifères, y compris l'homme, à qui elle est transmise par les animaux ou des produits dérivés contaminés. Elle est non contagieuse d'homme à homme. On distingue trois formes humaines de la maladie : la forme cutanée, caractérisée par la formation d'une escarre noire (d'où le nom de charbon), souvent associée à un œdème local, peut guérir spontanément et en tout cas après traitement ; la forme digestive, avec quelques signes gastro-

entériques peu significatifs, est d'un pronostic sévère ; enfin, la forme dite pulmonaire, gravissime, due à l'inhalation de spores, présente des symptômes pseudo-grippaux atypiques et devient rapidement fatale en absence de traitement.

Bacillus anthracis est l'agent responsable du charbon. Il s'agit d'une bactérie Gram positif, sporulante. Les spores, qui sont la forme infectante, sont retrouvées dans le sol où elles peuvent persister pendant des dizaines d'années. La persistance est d'ailleurs une caractéristique de cet agent infectieux et elle est la cause de ce qu'on appelle communément les champs maudits. Ceux-ci correspondent à des lieux où, de façon récurrente, apparaissent des foyers de charbon (Agnès Fouet et Michèle Mock, 1990)

1.4. La tularémie

La tularémie est une maladie infectieuse aiguë ressemblant à la peste mais beaucoup moins sévère. C'est en 1911 que le germe a été isolé à partir de cadavres d'écureuils dans le comté de Tulare (Californie), d'où son nom. La tularémie a été observée pour la première fois chez l'homme aux États-Unis en 1914. L'agent pathogène est une très petite bactérie : *Pasteurella tularensis*, une bactérie infectant de nombreuses espèces animales sauvages et domestiques. Le caractère dangereux et virulent de la sous espèce *P. tularensis* est à l'origine de sa potentielle utilisation comme arme biologique. (Michel Privat De Garilhe, 1990)

1.5. La morve

C'est une maladie infectieuse, virulente, inoculable et contagieuse, affectant essentiellement les équidés et transmissible à d'autres animaux et à l'homme. La morve est due à une bactérie aérobie spécifique, *Burkholderia mallei*, anciennement dénommé *Malleomyces mallei* (Bouchard, Loeffler, 1882) ; elle se caractérise par des formes aiguës ou chroniques, s'accompagnant d'ulcères et de réactions lymphatiques considérables, à prédominance respiratoire (morve nasale) ou cutanée (farcin), et aussi par des formes latentes nodulaires (morve pulmonaire).

La morve humaine est une maladie grave, aiguë ou chronique, mutilante ; elle est sensible à divers antibiotiques (cyclines, chloramphénicol). Réputée contagieuse, elle est l'objet de mesures sanitaires exclusives, fondées sur l'abattage des bêtes atteintes. L'éradication actuelle de la maladie doit cependant inciter à une vigilance constante. (Louis Joubert, 1990)

1.6. La mélioïdose

C'est une maladie infectieuse suppurative due au bacille de Whitmore *Pseudomonas pseudomallei*, rebaptisé *Malleomyces pseudomallei*, bactérie Gram négative mise en cause dès 1912 en Birmanie. La mélioïdose ou pseudomorve se déclare chez l'homme après une phase d'incubation de durée très variable ; dans certains cas, plusieurs années s'écoulent entre le contagement et l'apparition de manifestations cliniques. La mélioïdose animale a été diagnostiquée chez une grande variété d'espèces, et notamment chez les mammifères domestiques. (Jean-Michel Alonso, 1990)

1.7. Psittacose-ornithose

La psittacose est une maladie infectieuse et contagieuse transmise à l'homme par des oiseaux, et principalement par des Psittacidés (perruche, perroquet) la psittacose est essentiellement la forme clinique la plus grave transmise par les Psittacidés ; en revanche, l'ornithose est, en principe, la forme la moins sévère transmise par les autres oiseaux. L'homme et les Mammifères peuvent être contaminés accidentellement. Il s'agit donc de maladies entrant dans le cadre des zoonoses. L'agent de la psittacose est *Chlamydia psittaci*. (Marcel Capponi, 1990)

1.8. Les salmonelles

En pathologie humaine, les salmonelloses comprennent deux principaux types d'affections : les gastro-entérites et les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. *Salmonella typhi* et *paratyphi* ont l'Homme pour seul réservoir. La contamination se fait par l'ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine. Les *Salmonella* responsables des gastro-entérites sont des sérovars ubiquistes présents chez l'Homme et les animaux. Les salmonelloses sont une des principales causes de toxi-infections d'origine alimentaire (Jourdan Da Silva et Le Hello, 2012). Les principaux sérovars en cause sont *Typhimurium* et dans une moindre mesure *Enteritidis*. Les principales denrées incriminées sont les œufs et les ovo-produits devant les volailles et les viandes. Des cas de contamination humaine directe à partir du chien et du chat ont été décrits dans l'épidémiologie des salmonelloses humaines mais les carnivores domestiques ont un rôle très secondaire (Hoelzer et al., 2011).

1.9. La pasteurellose

La pasteurellose est une infection frappant l'homme et les animaux ; elle est causée par un microbe spécifique : *Pasteurella multocida* (ou *Pasteurella septica*). Jusqu'à ces dernières

années, le terme « pasteurellose » a été abusivement étendu aux infections dues à des germes du genre *Yersinia* (*Y. pestis* et *Y. pseudotuberculosis*, antérieurement appelés *Pasteurella pestis* et *P. pseudotuberculosis*). Il convient désormais de réserver l'appellation « pasteurellose » aux seules infections causées par *P. multocida*. (Encyclopaedia universalis France, 1972) *P. multocida* est un germe saprophyte très fréquent dans le tube digestif et les voies aériennes supérieures d'un grand nombre d'espèces animales. Il se comporte comme un « germe de sortie » : à l'occasion d'un affaiblissement de l'état général, d'une infection intercurrente (souvent virale), le germe, jusqu'alors bien toléré, entraîne l'éclosion d'une pasteurellose chez son hôte. La maladie prend souvent une allure épizootique dans les élevages, en particulier chez les lapins ou chez les volailles (choléra des poules, septicémie hémorragique).

Chez l'homme, la pasteurellose a presque toujours une origine animale : parfois, le germe est inhalé à l'occasion de manipulation d'animaux (maladie des plumeurs de volailles). Mais le plus souvent, l'homme est contaminé par effraction tégumentaire et inoculation directe du germe à l'occasion d'une morsure ou d'une griffure. (Henri-Hubert Mollaret, 1990)

1.10. Les leptospires

La leptospirose, également connue sous le nom de maladie des égoutiers ou des porchers, c'est une zoonose largement répandue dans le monde (Palmer et al., 2011). Les leptospiroses sont des infections polymorphes qui affectent diverses espèces animales et peuvent être transmises accidentellement à l'homme. Elles sont dues aux leptospires, micro-organismes de la famille des *Spirochaetaceae*.

Les trois genres *Leptospira*, *Treponema* et *Borrelia* qui composent l'ordre des *Spirochètales* ont pour caractéristiques essentielles leur disposition hélicoïdale, leur flexibilité et leur mobilité assurées grâce à un appareil locomoteur interne. (Henri-Hubert Mollaret, 1990)

Des animaux domestiques et sauvages sont les réservoirs des leptospires pathogènes, mais elles sont exceptionnelles chez le chat néanmoins, il existerait dans cette espèce un portage asymptomatique (André-Fontaine, 2006 ; Arbour et al., 2012).

1.11. La maladie de Lyme

La borréliose de Lyme, encore appelée maladie de Lyme, est une zoonose transmise essentiellement par morsure de tique, elle est due à l'infection de l'organisme par une bactérie sensible à la pénicilline, le spirochète *Borrelia burgdorferi*. Comme la syphilis, la maladie de Lyme évolue en trois phases : les graves lésions chroniques de la phase tertiaire peuvent être prévenues par un traitement antibiotique s'il est institué en phases primaire ou secondaire. Les

manifestations cliniques peuvent intéresser la peau, le système nerveux, le cœur, les articulations. (Ruel,1990)

1.12. La peste

La peste est une maladie affectant de très nombreuses espèces de rongeurs, les rats en particulier, elle touche également les chats et, exceptionnellement les chiens. Elle est due au bacille de Yersin (*Yersinia pestis*) Sa transmission se fait d'animal infecté à animal sain par piqûres de puces. Ces puces infectées peuvent transmettre aussi la peste à l'homme. (Henri Hubert Mollaret,1990)

1.13. Les campylobactéries

Les animaux domestiques sont les réservoirs naturels de plusieurs espèces qui infectent l'homme. Les Campylobactéries sont considérées comme la première cause de zoonose en Europe (European food Safety Authority [EFSA], 2012). *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* sont des causes fréquentes de diarrhée bactérienne surtout chez les jeunes enfants. Le mode essentiel de transmission à l'Homme est la consommation de denrées alimentaires contaminées, viandes de volailles et de porc, lait cru, eau (Moore *et al.*, 2005; Colin, 2006; Chemaly *et al.*, 2012; EFSA, 2012) mais une transmission par contact direct avec des carnivores domestiques est possible.

1.14. La listériose

La listériose est une maladie bactérienne qui affecte de nombreuses espèces animales, provoquée par la bactérie *Listeria monocytogenes*, c'est une maladie commune aux hommes et aux animaux, c'est-à-dire une anthroozoonose très rare, La listériose humaine est d'origine alimentaire. Elle survient le plus souvent chez les femmes enceintes et les immunodéprimés, (Paul et Martin,1990)

1.15. Plaies de morsures et de griffures par des carnivores : Pasteurelles et autres germes de surinfection

On estime à environ 100 000 le nombre de plaies attribuées aux animaux domestiques par an et en France. Si toutes les espèces animales peuvent intervenir, la transmission relève le plus souvent de morsures ou de griffures de chien (20 % des cas) et de chat (80 % des cas) (Patronek et Skavinski, 2009). Les bactéries à l'origine de surinfection de plaies, de morsures ou de griffures par des carnivores sont, le plus souvent, des bactéries de la cavité buccale des

animaux (Abrahamian et Goldstein, 2011). De très nombreuses espèces peuvent en être à l'origine. Le plus souvent, les infections sont multi-microbiennes, associant des bactéries anaérobies strictes à des bactéries aérobies et il est difficile de savoir précisément quelle(s) est (sont) les bactéries à l'origine de la suppuration (Talan et al., 1999). Dans l'étude de Talan et al. (1999), les principaux germes isolés de morsures de chiens infectées étaient, par ordre de fréquence : des Pasteurelles (50 %), des Staphylocoques et Streptocoques (46 % chacun), puis des bactéries anaérobies strictes des genres *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Porphyromonas* et *Prevotella* (respectivement 32 %, 30 %, 28 % et 28 %) et, plus rarement, d'autres bactéries anaérobies strictes, des *Neisseria* et des *Corynébactéries*. Chez le chat, les Pasteurelles prédominaient largement (75 %) suivies par des Streptocoques (46 %), des Staphylocoques (35 %), des bactéries anaérobies strictes, des *corynébactéries* et *Neisseria*. Les résultats obtenus par Goldstein et al. (1978) sur un nombre limité de prélèvements suite à des morsures de chien avaient mis en évidence le rôle prédominant des *Staphylocoques*.

2. Les pyodermites cutané-muqueuses chez le chien

Le principal pathogène cutané chez le chien est le *Staphylococcus pseudintermedius* c'est un Staphylocoque Gram positif et coagulase positive, à développement extracellulaire; il représente 97 à 100% des Staphylocoques pathogènes chez le chien (Saijonmaakoulumies, et al., 1996). Malgré ce statut de pathogène majeur, il est fréquemment isolé à partir de chiens sains (Harvey, et al., 1994; Allaker et al., 1992).

3. Les otites chez le chien

Plusieurs types de bactéries peuvent se développer dans le conduit auditif, provoquant l'apparition d'une otite accompagnée souvent de sécrétions purulentes et d'une odeur très désagréable. Les principaux microorganismes responsables d'otites sont *Staphylococcus intermedius*, les Staphylocoques à coagulase +, *S. schleiferi*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus canis*, *Malassezia pachydermatis*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* et *Corynebacterium auriscanis*. (Cole et al., 1998; Colombini et al., 2000).

Les mêmes agents bactériens sont impliqués lors d'otites moyenne que lors d'une otite externe. Les surinfections bactériennes des otites représentent des complications extrêmement fréquentes. Les germes les plus souvent isolés sont des Gram + (ex : *Staphylococcus* et *Streptococcus*), cependant ils ne constituent pas l'infection la plus grave puisque les bactéries à Gram – (ex : *Pseudomonas* et *Proteus*) retrouvées dans le conduit auriculaire sont le plus

souvent pluri-résistantes et entraînent des symptômes plus sévères. (Cole *et al.*, 1998; Colombini *et al.*, 2000).

4. Les infections intra mammaires chez les bovins

Les infections mammaires sont essentiellement dues à moins de dix espèces bactériennes, que l'on classe en bactéries pathogènes majeures et mineures. La distinction se fait par rapport à la sévérité de la réaction intra-mammaire à l'infection. (Dodd et Booth, 2000)

Les bactéries pathogènes majeures sont : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* et *Escherichia coli*. Les bactéries pathogènes mineurs sont : les staphylocoques coagulase négative et *Arcanobacterium bovis* (auparavant dénommé *Corynebacterium bovis*). Elles sont présentes dans les quartiers infectés et sur les trayons crevassés de certaines vaches. Ces bactéries se multiplient dans les litières et contaminent les animaux lors de contacts par couchage. (L'Ordre des médecins vétérinaires du Québec., 2002)

Partie II

Matériel et Méthodes

I. NATURE ET ORIGINE DES ECHANTILLONS

Les prélèvements ont été effectués sur divers animaux provenant des services de « médecine canine », « chirurgie » et « anatomie pathologique » de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (E.N.S.V.), d'une clinique chirurgicale de la médecine humaine située à Bordj-bouarréridj et d'un cabinet vétérinaire situé à Ain-Allah (Alger). Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'E.N.S.V. d'Alger. Chaque analyse a été suivie d'une fiche d'enquête afin de recueillir le maximum d'information (espèce animale / sexe / âge / type de prélèvement / pathologie suspectée / état de santé / description).

Avant d'effectuer tout prélèvement, il est important de s'assurer de la qualité de l'asepsie du prélèvement (main propre, écouvillon stérile...) mais aussi de la contention correcte de l'animal pour la sécurité de ce dernier et de l'opérateur. Les principaux types de prélèvements réalisés sont mentionnés et décrits ci-dessous :

1. Prélèvement Auriculaire

Le pavillon de l'oreille doit être fermement tenu vertical. L'écouvillon stérile est ensuite doucement introduit dans l'oreille jusqu'à atteindre le canal horizontal. Le tympan ne doit pas être touché. L'écouvillon est alors délicatement roulé sur la paroi interne du canal afin de prélever de l'exsudat puis il est retiré (Bourdeau P, 1994).

2. Prélèvement à partir d'abcès

Le prélèvement est effectué au niveau de la membrane pyogène de l'abcès pour pouvoir prélever un maximum de bactéries. Si l'abcès est bien délimité, une ponction d'abcès est nécessaire (Vigot, 1921).

3. Prélèvement à partir de plaie infectée

Ce prélèvement permet d'identifier le ou les germes responsables de l'infection locale et le choix de l'antibiothérapie adaptée. Pour cela, il suffit de nettoyer avec la solution antiseptique le pourtour de la plaie afin d'éliminer la flore commensale et de prélever ensuite les sécrétions les plus douteuses avec une seringue stérile ou un écouvillon (François Pebret, 2003).

4. Prélèvement à partir d'organes

Ce type de prélèvement permet le diagnostic des maladies microbiennes par isolement à partir d'organes lésés (poumon, foie, rein, rate, ganglion, cœur...). Il est effectué immédiatement après la mort de l'animal d'une manière stérile. Il est recommandé de ne jamais attendre au-delà de 6 heures après la mort si ce n'est pas le cadavre d'un petit animal conservé au froid (Konte *et al.*, 1990).

Après chaque prélèvement, il est primordial d'identifier l'échantillon en notant les informations relatives au patient sur l'écouvillon, de remplir la fiche de demande d'examen en précisant exactement le lieu et le type du prélèvement (si c'est une plaie : postopératoire, traumatique, escarre, ulcère, mal perforant plantaire, fistule. L'oreille droite ou gauche pour le prélèvement auriculaire...). Il faut acheminer ensuite le prélèvement au laboratoire accompagné de la feuille de demande d'examen, dans un délai très bref. (François Pebret, 2003)

II. ISOLEMENT ET CONSERVATION DES SOUCHES BACTERIENNES

1. Enrichissement des cultures

Les écouvillons sont ensemencés de façon stérile dans un bouillon d'enrichissement, bouillon cœur cerveau, appelé BHIB (*de l'anglais* : Brain Heart Infusion Broth) dans le but d'augmenter le nombre des bactéries. Ils sont ensuite incubés dans une étuve à 37°C pendant 18h à 24h (Le Minor et Veron, 1982; Pilet *et al.*, 1983).

2. Isolement des souches bactériennes

L'isolement des souches bactériennes se fait en prélevant un petit volume (quelques gouttes) de la suspension bactérienne enrichie de manière stérile à l'aide d'une pipette pasteur. Cet inoculum est ensemencé sur une gélose nutritive qui est un milieu d'isolement non sélectif. Après incubation à 37 °C durant 24 h, la boîte de pétri est examinée dans le but de contrôler la pureté de la culture bactérienne. Les différentes bactéries seront purifiées et étudiées individuellement (Bent Mohamed et Mint Sidi baba, 2008).

3. Conservation des souches

Quelques colonies de la boîte de pétri sont prélevées à l'aide d'une anse de platine d'une manière stérile puis ensemencées sur un milieu de conservation pour être congelées à une température de -18°C. Le milieu de conservation contient un cryoprotecteur « glycérol » permettant aux bactéries de supporter bien la congélation en donnant de bons taux de revivification après décongélation.

III. IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES

1. Les tests d'orientation

1.1. Examen microscopique et coloration de Gram

Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram et permet de regrouper les bactéries en 2 catégories distinctes. Cette répartition des bactéries en Gram+ et Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. En outre, la coloration de Gram reste une étape essentielle dans l'analyse médicale pour la détermination des pathogènes. Elle permet, en plus de déterminer le type de Gram, de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes, leur regroupement cellulaire et leurs tailles. Bien que le résultat de cette coloration puisse dépendre de l'état physiologique des bactéries (âge de la colonie, conditions de croissances), elle reste cependant la technique de coloration de base de la bactériologie (Lansing *et al.* 2010 ; Denis *et al.*; 2012)

➤ Mode opératoire

Un frottis est préparé à partir de la suspension bactérienne puis fixé à la flamme pour le colorer ensuite selon les étapes suivantes :

- une minute au Violet de Gentiane ;
- une minute au Lugol ;
- trente secondes dans l'Alcool à 95% ;
- rinçage à l'eau ;
- une minute dans la Fuchsine.

Le violet de gentiane se fixe sur des composants cytoplasmiques, toutes les bactéries sont à présent violettes. Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi riche en lipides laisse passer

l'alcool qui décolore le cytoplasme, alors que chez les bactéries à Gram positif la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet (Lansing *et al.* 2010).

➤ Observation

À l'issue de cette coloration, on peut distinguer au microscope optique au grossissement (10 X 100), des bactéries colorées en violet foncées dites Gram positif, ou bien des bactéries colorées en rose à rouge pâle dites Gram négatif (Lansing *et al.* 2010).

1.2. Test de culture et physiologiques

1.2.1. Caractérisation sur Milieu Chapman

La gélose Chapman est un milieu sélectif des bactéries halophiles, notamment les bactéries à Gram positif. Il permet de mettre en évidence la fermentation du mannitol, révélée grâce au virage de l'indicateur coloré de pH, le rouge de phénol (Kloos, 1999; Delarras, 2007). Ce milieu est utilisé surtout pour l'isolement des *Staphylococcus* mais on y cultive également les *Micrococcaceae* et quelques autres Gram positifs.

La composition chimique et le mode de préparation de ce milieu sont donnés en annexe n°01

➤ Observation / Lecture

La lecture est basée d'une part sur la présence ou non de colonies et d'autre part sur le virage de couleur de l'indicateur coloré du PH (rouge de phénol). Il faut savoir que le rouge de phénol est rouge en milieu alcalin et jaune en milieu acide.

- Si le milieu reste rouge, cela veut dire que la bactérie n'utilise pas le mannitol, (dite Mannitol -), car elle ne le fermente pas. Une légère alcalinisation du milieu due à l'utilisation des peptones dans leur métabolisme énergétique maintien la couleur rouge de l'indicateur coloré du pH.

- Si le milieu vire au jaune, cela signifie que la bactérie utilise le mannitol + en le fermentant (dite Mannitol +). Cette fermentation engendre des produits acides responsables de l'acidification du milieu de culture qui induit ainsi le virage de couleur (Fig. 07)

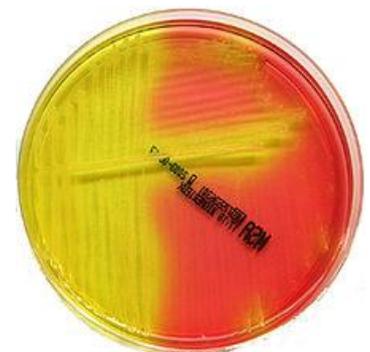


Figure 07 : Mise en évidence du virage de couleur sur Gélose Chapman

Il est également à noter que bien que la gélose Chapman soit sélective pour les *Staphylococcus*, tous les micro-organismes pouvant cultiver sur ce milieu auront mis en évidence leur caractère halophile (Delarras, 2014).

1.2.2. Caractérisation sur Milieu Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu sélectif aux Gram négatifs (par la présence des sels biliaires) permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes. Elle est très utilisée dans la recherche des salmonelles et les Shigelles et évite l'envahissement par les *Proteus*. De nombreuses bactéries à Gram négatif peuvent s'y développer. (Delarras, 2014).

Ce milieu contient trois sucres (lactose, saccharose et salicine) comme critère de différenciation et un indicateur coloré de pH (bleu de bromothymol) révélant l'utilisation ou non de l'un de ces sucres. L'identification d'entérobactéries pathogènes (notamment *Salmonella* et *Shigella*) repose sur la non utilisation des glucides présents dans ce milieu (Biokar diagnostics, 2004). La présence dans ce milieu de « thiosulfate d'hydrogène » qui est un précurseur de sulfures d'hydrogène (H_2S) et le révélateur de ce dernier « citrate ferrique ammoniacal » permet de détecter les bactéries H_2S+ qui sont dans la plupart des cas des *Salmonella*, quelquefois *Proteus* et de les distinguer des *Shigella* (H_2S-) (Delarras, 2014).

La composition chimique du milieu de culture Hektoen est donnée en annexe n°02

➤ Observation / Lecture

Le principe de lecture est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu. Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur jaunâtre 'saumon', les autres donnant des colonies bleues ou vertes n'utilisent aucun de ces glucides. La couleur bleue peut être due à l'utilisation du citrate.

La production d' H_2S est révélée par le citrate ferrique en donnant des colonies à centre noir.

Les différentes observations et orientations/interprétations possibles sur ce milieu sont ci-dessous :

- Colonies jaunes sans centre noir : *E.coli*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*.
- Colonies jaunes à centre gris : *Proteus vulgaris*.
- Colonies vertes à centre noir : *Salmonella* sp., *Proteus mirabilis*.
- Colonies vertes ou bleuâtres sans centre noir : *Shigella*, *Morganella*, *Providencia*...
- Colonies bleuâtres oxydase+ : *Pseudomonas* (Delarras, 2014)



Figure 08 : Colonies de *Salmonella typhimurium* sur gélose Hektoen

1.2.3 Ensemencement des souches sur ces milieux

Prélever de façon stérile à l'aide d'une anse de platine quelques gouttes de la suspension bactérienne, les ensemercer sur la gélose Chapman puis incubé les boîtes dans une étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C. (Flandrois, 1997)

2. Tests biochimiques - galeries Api

L'identification biochimique est proposée par micro méthode sur une galerie API spécifique de ces germes (Delarras, 2014).

2.1. La galerie API-Staph

API-Staph est un système standardisé permettant d'identifier les espèces et sous espèces de *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria*. Ce système comprend des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données (Delarras, 2014).

Mode opératoire

Le mode opératoire se fait selon les étapes suivantes :

- prendre des colonies bactériennes à partir de la boîte de pétri et les rajouter à la solution Staph médium, pour ensuite homogénéiser le mélange à l'aide d'un Vortex.
- remplir les microtubules de la galerie par la suspension obtenue en utilisant des pipettes Pasteur.
- les tests ADH et URE nécessitent une anaérobiose obtenue en fermant les microtubules avec de l'huile de paraffine.
- incubé la galerie à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- les résultats sont interprétés après leur conversion en codes grâce à une base de données informatisée (APIweb staph) (Murray, 2003).

2.2. La galerie API-20E

API-20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, primitivement conçue dans les années 1970. Ce système comprend 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données (Delarras, 2014).

Mode opératoire

Le mode opératoire se fait selon les étapes suivantes :

- préparer une suspension bactérienne homogène en prélevant des colonies à partir d'une boîte de Pétri.
- remplir les microtubules de la galerie par la suspension obtenue en utilisant des pipettes Pasteur.
- concernant les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule, pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).
- les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE nécessitent une anaérobiose obtenue en fermant les microtubules avec de l'huile de paraffine.
- refermer la boîte d'incubation.
- incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures. (Delarras, 2014)

Observation : (Delarras, 2014)

Le tableau 01 ci-dessous montre outre les substrats et le caractère recherché pour chaque test, les résultats de lecture de la galerie et les réactifs à rajouter dans certains tests après incubation.

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E					
Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β-galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d'α-naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Tableau n° 01 : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20 E

IV. PROFIL DE SENSIBILITE DES SOUCHES BACTERIENNES AUX ANTIBIOTIQUES

La méthode qui a été utilisée à cet effet est celle de la diffusion en gélose par antibiographie. Elle consiste à évaluer simultanément l'activité inhibitrice de plusieurs anti-infectieux représentatifs des principales familles d'antibiotiques sur une souche bactérienne pure et fraîchement isolée de moins de 24 heures. Pour ce faire, des disques imprégnés des antibiotiques à tester sont déposés en surface d'une gélose préalablement ensemencée avec une dose calibrée d'une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations dans le milieu de culture sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation à 37 +/- 2°C pendant 21 +/- 3 heures, les disques sont entourés de zones d'inhibition le plus souvent circulaires, correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. (Association Régionale de Santé et d'Identification Animales, 2013).

➤ Protocole expérimental

Le protocole consiste d'abord à réaliser une suspension bactérienne standardisée en liquide physiologique stérile de germes recueillis en culture pure et fraîche de moins de 24 h, et titrant entre 1 et 3 millions d'UFC/ml.

Dans les 15 minutes, ensemencement de Mueller-Hinton Agar du commerce (MH) par inondation de la surface de la gélose. Après séchage des boîtes en effectuant des mouvements rotatoires, les disques à tester sont déposés à l'aide de distributeurs adéquats ou d'une pince. Ces derniers sont imprégnés d'un antibiotique sous forme cristallisée et conservés à température ambiante. Après incubation en aérobiose à 37 +/- 2°C pendant 21 +/- 3 heures, les diamètres d'inhibition sont lus et comparés aux standards. (Association Régionale de Santé et d'Identification Animales, 2013).

Partie III

Résultats et Discussion

I. PRELEVEMENTS :

Différents types de prélèvements ont été réalisés : auriculaire (lors d'otite) / cutané (lors de plaie infectée ou abcès cutané). Le tableau ci-dessous les différentes nature de prélèvements effectués.

Nature du prélèvement	Nombre de prélèvements	pourcentage
Prélèvement auriculaire	41	49%
Prélèvement à partir de plaie infectée	19	23%
Prélèvement à partir d'organe	19	23%
Prélèvement nasal	2	2%
Prélèvement urinaire	2	2%
abcès cutané	1	1%
TOTAL	84	100%

Tableau 02 La nature des prélèvements effectués

Ces mêmes prélèvements ont été prélevés de différentes espèces animales dont l'espèce canine, féline et la volaille, voir tableau ci-dessous.

Espèces	Nombre de prélèvements	pourcentage
Chat	26	31%
Chien	25	30%
Humain	13	15%
Volaille	9	11%
pintade	3	4%
Lapin	3	4%
ovin	3	4%
Ecureuil	2	2%
TOTAL	84	100%

Tableau 03 Espèces animales étudiées

II. IDENTIFICATION DES SOUCHES

1. Analyse microscopique

Après coloration de Gram, plusieurs espèces bactériennes, de différentes formes et de différents regroupements cellulaires sont mises en évidence.

L'examen microscopique révèle :

- ❖ 64 Coques à coloration violette, dites bactéries à gram positif ; dont 31 sont regroupées en grappe de raisin rappelant le regroupement cellulaire caractéristique des Staphylocoques, 32 autres en chaînette, permettant de suspecter la présence des Streptocoques/Entérocoques.
- ❖ 20 bâtonnets (Coccobacilles), à coloration rose, dites bactéries à Gram négatif, ayant un regroupement cellulaire en amas/diplobacille/isolé rappelant les entérobactéries tout en considérant l'étiologie des pathologies.

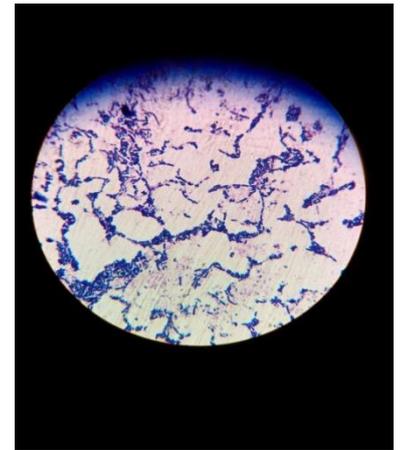


Figure 09 : Aspect microscopique

Ces résultats sont résumés dans le tableau 04 suivant :

	Gram +	Gram-
Isolat	76,2% (64 Souches)	23,8% (20 Souches)
Forme bactérienne	64 Coques	20 bâtonnets
Type de regroupement bactérien	31 en chaînette et 31 en amas, deux en diploque à tétrade	20 en Diplobacille à bacille isolé

Tableau 04 Résultat de l'examen microscopique

2. Étude des caractères culturels et physiologiques

Parmi les bactéries à Gram positif ;

- ❖ Les bactéries (31) à regroupement en grappe de raisin ont montré sur le milieu Chapman un virage au jaune, les staphylocoques ont dégradé le mannitol présent dans le milieu, l'utilisation d'une galerie api staph nous a été utile pour identifier l'espèce de Staphylocoque isolé.
- ❖ Les bactéries à regroupement en chaînette n'ont pas montré de changement de couleur sur le milieu Chapman.
- ❖ La souche à regroupement irrégulier n'a pas également modifié la couleur du milieu.

Quant aux bactéries à Gram négatif ; elles ont poussé sur milieu Hektoen et on a remarqué plusieurs types de colonies, parmi lesquels :

- ❖ des colonies vertes à centre noir : les *Salmonelles*, *Proteus mirabilis*.
- ❖ des colonies jaunes à centre gris : *Proteus vulgaris*.
- ❖ colonies vertes ou bleuâtres sans centre noir : *Shigella*, *Morganella*, *Providencia*...
- ❖ colonies bleuâtres oxydase positive : *Pseudomonas*

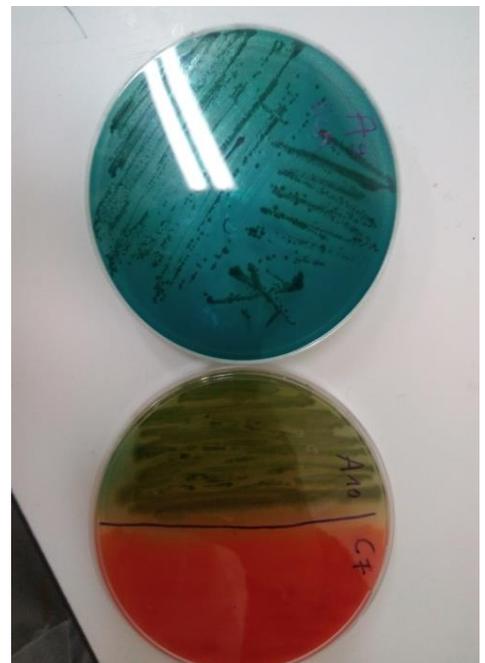


Figure 10 : La poussée de certaines bactéries sur milieu Hektoen

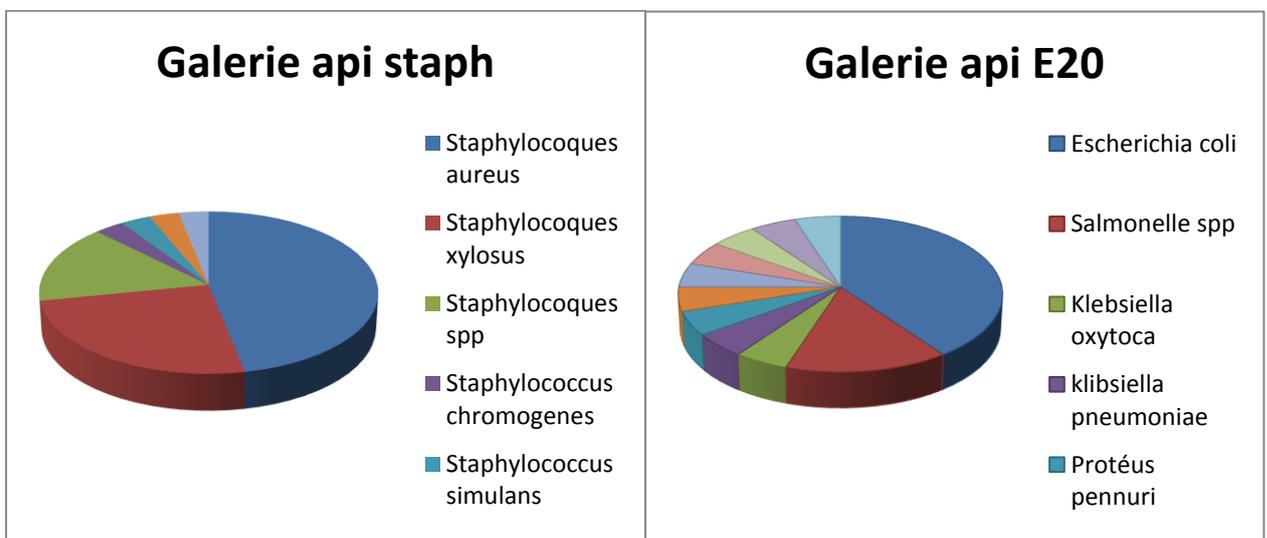
Une galerie Api a été utilisée pour confirmer ces résultats.

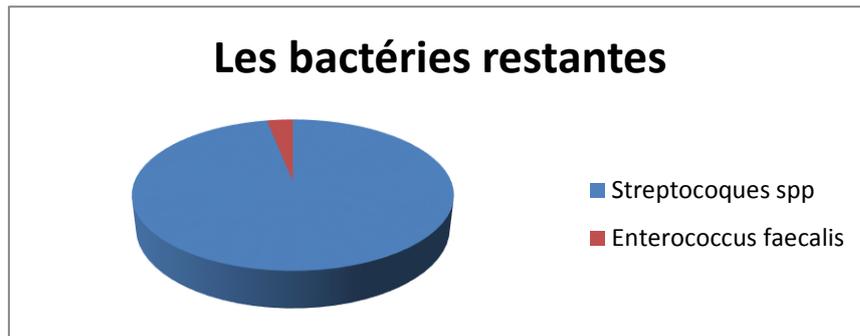
3. Analyse biochimique par galerie rapide

Après utilisation des galeries api (Api staph/ Api E20), on a pu caractériser chacune des souches de nos échantillons, le tableau suivant résume les résultats obtenus :

Galerie api Staph	Galerie api E20	
15 <i>Staphylocoques aureus</i>	8 <i>E.coli</i>	31 autres <i>Streptocoques spp</i>
8 <i>Staphylocoques xylosus</i>	3 <i>Salmonelle spp</i>	1 <i>Enterococcus faecalis</i>
5 <i>Staphylocoques spp</i>	1 <i>Klebsiella oxytoca</i>	
1 <i>Staphylococcus chromogenes</i>	1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	
1 <i>Staphylococcus simulans</i>	1 <i>Protéus pennuri</i>	
1 <i>Staphylococcus Lentus</i>	1 <i>Cedecea lapagei</i>	
1 <i>Micrococcus spp</i>	1 <i>Pleisiomonas shigelloides</i>	
	1 <i>Serratia odoriféra</i>	
	1 <i>Entérobacter spp</i>	
	1 <i>Aéromonas hydrophila</i>	
	1 <i>Vibrio cholerae</i>	

Tableau 05 : les espèces bactériennes identifiées





Après une identification précise de chaque souche, un tableau récapitulatif sur lequel figure l'espèce animale, la pathologie associée et l'espèce bactérienne isolée a été réalisé (Tableau 06)

code	espèce animale	Pathologie	espèce bactérienne
1	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
2	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
3	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
4	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
5	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
6	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
7	Volaille	Pancréas	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
8	Volaille	Coccidiose (foie)	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
9	Chien	Plaie (césarienne)	<i>Staphylococcus Spp</i>
10	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Staphylococcus Spp</i>
11	Pintade	Foie	<i>Staphylococcus Spp</i>
12	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Staphylococcus Spp</i>
13	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Staphylococcus Spp</i>
14	Chien	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Simulans</i>
15	Volaille	Coccidiose (foie)	<i>Staphylococcus Lentus</i>
16	Volaille	Coccidiose (foie)	<i>Staphylococcus Chromogenes</i>
17	Chien	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
18	écureuil	Intestin	<i>Staphylococcus Auréus</i>
19	écureuil	Intestin	<i>Staphylococcus Auréus</i>
20	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
21	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
22	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
23	Chat	Coryza (foie)	<i>staphylococcus Auréus</i>
24	Chien	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
25	Humain	Plaie (jambe)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
26	Chat	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
27	Agneau	Cœur	<i>Staphylococcus Auréus</i>
28	Agneau	Thymus	<i>Staphylococcus Auréus</i>
29	Chien	Plaie (abcès cutanés)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
30	Agneau	Poumon	<i>Staphylococcus Auréus</i>

31	Chien	Otite (oreille)	<i>Staphylococcus Auréus</i>
45	Chat	Otite (oreille)	<i>Micrococcus Spp</i>
53	Chat	Insuffisance rénale (urine)	<i>Enterococcus Faecalis</i>
35	Chat	Coryza (poumon)	<i>Vibrio Cholerae</i>
32	Chien	Otite (oreille)	<i>Aéromonas Hydrophila</i>
36	Volaille	Coccidiose (foie)	<i>Klebsiella Oxytoca</i>
33	Chat	Otite (oreille)	<i>Klibsiella Pneumoniae</i>
34	Lapin	Plaie	<i>Protéus Pennuri</i>
44	Chien	Plaie	<i>Cedecea Lapagei</i>
37	Chat	Coryza (intestin)	<i>Pleisiomonas Shigelloides</i>
38	Volaille	Pancréas	<i>Serratia Odoriféra</i>
40	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Entérobacter Spp</i>
41	Volaille (poussin)	Cœur	<i>Salmonella Spp</i>
42	Volaille (poussin)	Cœur	<i>Salmonella Spp</i>
43	Lapin	Plaie	<i>Salmonella Enterica Spp</i>
46	Humain	Plaie (jambe)	<i>Escherichia coli</i>
39	Chien	Otite (oreille)	<i>Escherichia coli</i>
47	Humain	Plaie (jambe)	<i>Escherichia coli</i>
48	Chat	Otite (oreille)	<i>Escherichia coli</i>
49	Chat	Insuffisance rénale (urine)	<i>Escherichia coli</i>
50	Chien	Otite (oreille)	<i>Escherichia coli</i>
51	Chien	Otite (oreille)	<i>Escherichia coli</i>
52	Pentade	Foie	<i>Escherichia coli</i>
54	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
55	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
56	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
57	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
58	Volaille	Cœur	<i>Streptococcus Spp</i>
59	Lapin	Plaie	<i>Streptococcus Spp</i>
60	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Streptococcus Spp</i>
61	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Streptococcus Spp</i>
62	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
63	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
64	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
65	Humain	Plaie (jambe)	<i>Streptococcus Spp</i>
66	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Streptococcus Spp</i>
67	Humain	Plaie (césarienne)	<i>Streptococcus Spp</i>
68	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
69	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
70	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
71	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
72	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
73	Chien	Plaie infectée	<i>Streptococcus Spp</i>
74	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
75	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
76	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
77	Chien	Nasal	<i>Streptococcus Spp</i>

78	Chien	Nasal	<i>Streptococcus Spp</i>
79	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
80	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
81	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
82	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
83	Chat	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>
84	Chien	Otite (oreille)	<i>Streptococcus Spp</i>

Tableau 06 : récapitulatif des prélèvements effectués

III. SENSIBILITE DES SOUCHES ISOLEES AUX ANTIBIOTIQUES

1. L'étude de la sensibilité des Staphylocoques aux antibiotiques

Un antibiogramme a été réalisé pour les 31 souches de *Staphylocoques* isolées afin de tester leur sensibilité et leur résistance vis-à-vis de quatre molécules appartenant à des familles différentes d'antibiotiques, les résultats sont décrits sur le tableau ci-dessous.

	Erythromycine	Pénicilline	Chloramphénicol	Vancomycine	souches multi-résistantes
P001	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	x
P002	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P003	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P004	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	x
P005	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	x
P006	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P007	Sensible	Sensible	Sensible	Résistant	
P008	Résistant	résistant	Sensible	Résistant	x
P009	Intermédiaire	résistant	Intermédiaire	Intermédiaire	
P010	Intermédiaire	résistant	Sensible	Intermédiaire	
P011	Sensible	Résistant	Sensible	Résistant	x
P012	Résistant	Intermédiaire	Intermédiaire	Résistant	x
P013	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P014	Intermédiaire	Sensible	Sensible	Sensible	
P015	Résistant	résistant	Sensible	Résistant	x
P016	Intermédiaire	résistant	Intermédiaire	Intermédiaire	
P017	Intermédiaire	résistant	Intermédiaire	Résistant	x

P018	Intermédiaire	résistant	Sensible	Résistant	x
P019	Résistant	résistant	Sensible	Résistant	x
P020	Intermédiaire	résistant	Sensible	Intermédiaire	
P021	Intermédiaire	résistant	Intermédiaire	Résistant	x
P022	Intermédiaire	résistant	Intermédiaire	Résistant	x
P023	Intermédiaire	résistant	Intermédiaire	Résistant	x
P024	Intermédiaire	Intermédiaire	Sensible	Sensible	
P025	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Sensible	
P026	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P027	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	x
P028	Sensible	Résistant	Sensible	Sensible	
P029	Résistant	Résistant	Intermédiaire	Sensible	x
P030	Sensible	Résistant	Sensible	Sensible	
P031	Sensible	Résistant	Résistant	Résistant	x

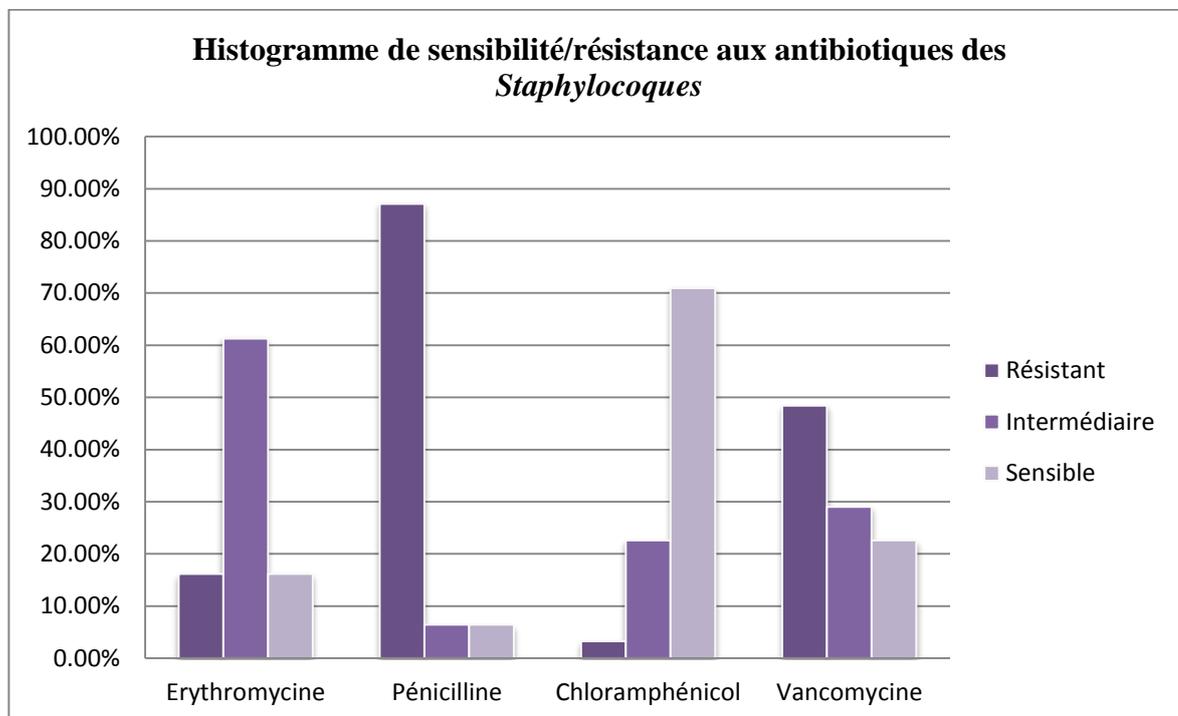
Tableau 07 : Résultats des antibiogrammes pour les souches de *Staphylocoques* isolées

Parmi les 31 souches de Staphylocoque ; 16 souches ont montré une multi résistance aux antibiotiques utilisés (voir tableau ci-dessous)

Profils	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Erythromycine	16,13% (5)	61,29% (19)	16,13% (5)
Pénicilline	87,10% (27)	6,45% (2)	6,45% (2)
Chloramphénicol	3,23% (1)	22,58 (7)	70,97% (22)
Vancomycine	48,39% (15)	29,03% (9)	22,58% (7)

Tableau 08 : Pourcentage de résistance et de sensibilité des *Staphylocoques* par antibiotique

L'histogramme suivant résume le tableau en dessus



2. L'étude de la sensibilité des streptocoques aux antibiotiques

Les résultats de l'antibiogramme des streptocoques sont résumés dans le tableau ci-dessous dans lequel nous pouvons noter le profil de résistance et de sensibilité de chaque souche de Streptocoque isolée.

	Erythromycine	Pénicilline	Chloramphénicol	Vancomycine	souches multi-résistantes
P054	Intermédiaire	Résistant	Résistant	Sensible	X
P055	Sensible	Intermédiaire	Sensible	Sensible	
P056	Sensible	Résistant	Sensible	Résistant	X
P057	Sensible	Intermédiaire	Sensible	Sensible	
P058	Intermédiaire	Résistant	Intermédiaire	Résistant	X
P059	Intermédiaire	Résistant	Intermédiaire	Résistant	X
P060	Sensible	Résistant	Intermédiaire	Intermédiaire	
P061	Résistant	Résistant	Intermédiaire	Intermédiaire	X

P062	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	X
P063	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	X
P064	Sensible	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P065	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P066	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	X
P067	Sensible	Intermédiaire	Sensible	Résistant	
P068	Sensible	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P069	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	X
P070	Intermédiaire	Résistant	Intermédiaire	Résistant	X
P071	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	X
P072	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	X
P073	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	X
P074	Résistant	Résistant	Intermédiaire	Résistant	X
P075	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	X
P076	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	X
P077	Intermédiaire	Résistant	Intermédiaire	Résistant	X
P078	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	X
P079	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P080	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	X
P081	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Sensible	
P082	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Intermédiaire	
P083	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	X
P084	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Sensible	

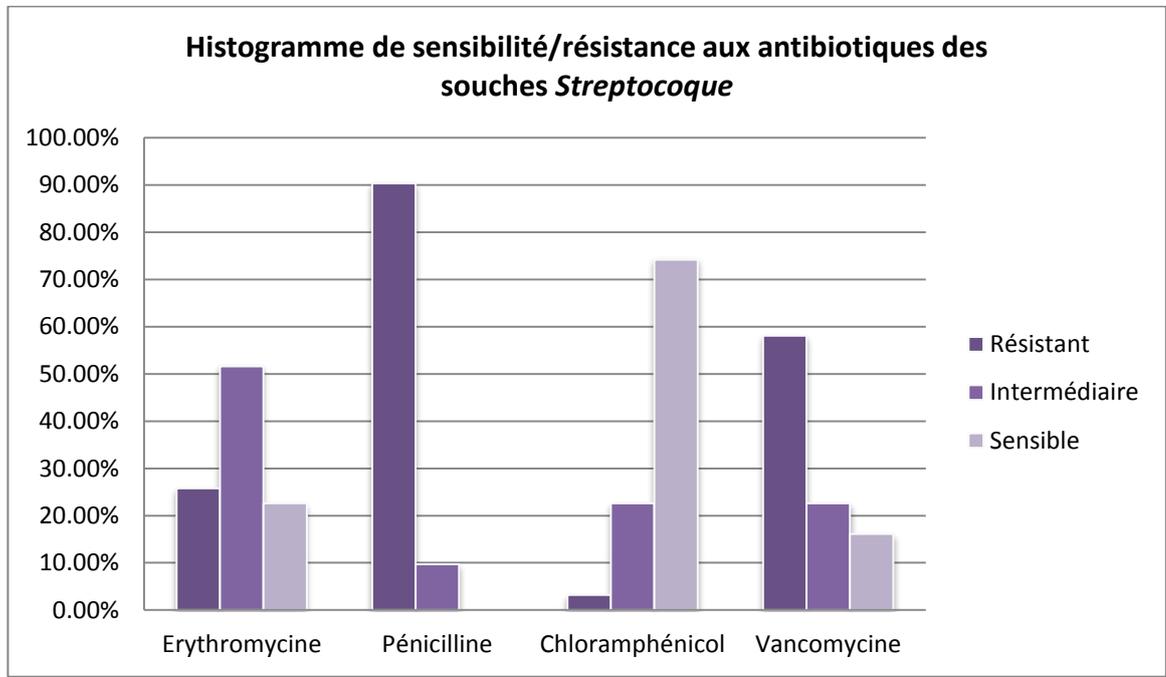
Tableau 09 : Résultats des antibiogrammes pour les souches de *Streptocoques* isolées

Parmi les 31 souches de streptocoques isolés, 20 souches sont multi résistants aux antibiotiques, le tableau suivant montre l'antibiotique auquel les streptocoques isolés sont le plus résistants ou le plus sensibles

Profils	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Erythromycine	25,81% (8)	51,61% (16)	22,58% (7)
Pénicilline	90,32% (28)	9,68% (3)	0,00% (0)
Chloramphénicol	3,23% (1)	22,58% (7)	74,19% (23)
Vancomycine	58,06% (18)	22,58% (7)	16,13% (5)

Tableau 10 : Pourcentage de résistance et de sensibilité des *Streptocoques* par antibiotique

On constate que la plupart des souches de streptocoques isolées ont développé une résistance à la pénicilline, contrairement au chloramphénicol pour lequel 3,2% des bactéries sont résistantes, l'histogramme suivant nous résume le profil de résistance de ces streptocoques.



3. L'étude de la sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques

Différentes familles d'antibiotiques sont utilisées dans l'antibiogramme des entérobactéries, les résultats de l'antibiogramme sont résumés dans le tableau suivant

	Colistine	Acide nalidixique	Chloramphénicol	Gentamycine	souches multi-résistantes
P033	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	X
P034	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	
P036	Résistant	Résistant	Intermédiaire	Résistant	X
P037	Sensible	Intermédiaire	Sensible	Sensible	
P038	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	
P039	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	X
P040	Résistant	Intermédiaire	Sensible	Sensible	
P041	Résistant	Intermédiaire	Sensible	Sensible	
P042	Résistant	Résistant	Intermédiaire	Sensible	X
P043	Résistant	Intermédiaire	Sensible	Sensible	

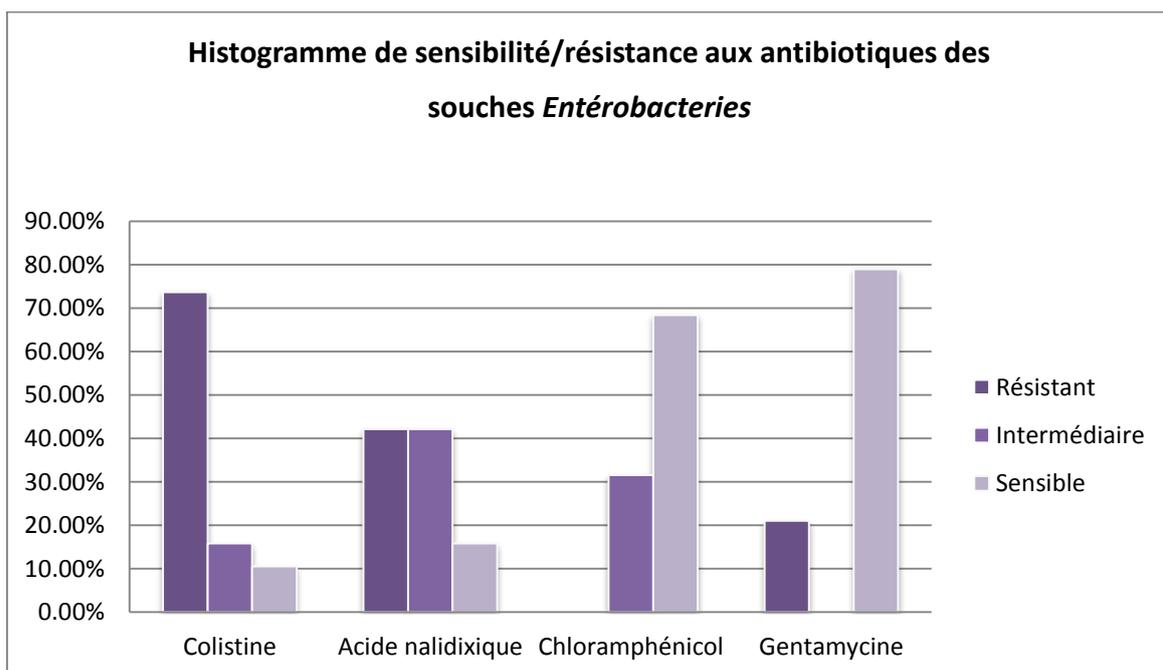
P044	Résistant	Intermédiaire	Intermédiaire	Sensible	
P046	Intermédiaire	Intermédiaire	Sensible	Sensible	
P047	Intermédiaire	Sensible	Sensible	Sensible	
P048	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	X
P049	Intermédiaire	Résistant	Sensible	Résistant	X
P050	Résistant	Résistant	Intermédiaire	Sensible	X
P051	Résistant	Résistant	Intermédiaire	Résistant	X
P052	Résistant	Intermédiaire	Intermédiaire	Sensible	
P053	Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	X

Tableau 11 : Résultats des antibiogrammes pour les souches d'Entérobactéries isolées

Les résultats de l'antibiogramme montrent que 9 souches d'entérobactérie sont multi résistantes, le tableau montre les pourcentages de résistance et de sensibilité des souches pour chaque antibiotique.

Profils	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Colistine	73,68% (14)	15,79% (3)	10,53% (2)
Acide nalidixique	42,11% (8)	42,11% (8)	15,79% (3)
Chloramphénicol	0,00% (0)	31,58% (6)	68,42% (13)
Gentamycine	21,05% (4)	0,00% (0)	78,95% (15)

Tableau 12 Pourcentage de résistance et de sensibilité des Entérobactéries par antibiotiques



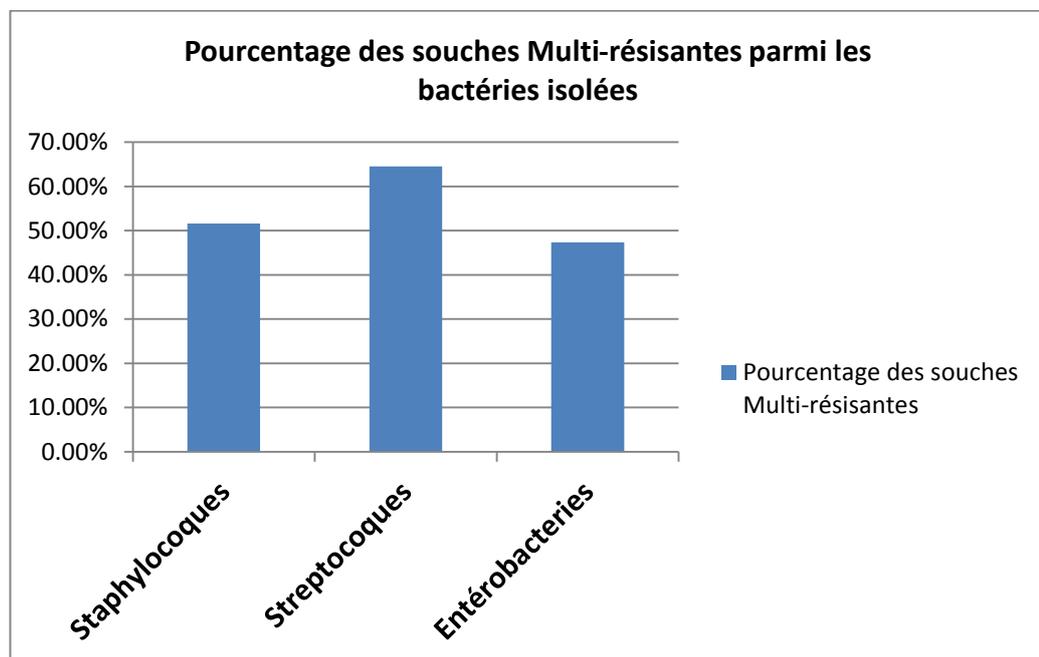
4. L'étude de la sensibilité des souches restantes aux antibiotiques

	Colistine	Acide nalidixique	Chloramphénicol	Gentamycine	souches multi-résistantes
P032	Sensible	Sensible	Intermédiaire	Sensible	
P035	Résistant	Résistant	Intermédiaire	Résistant	x
P045	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	x

Tableau n° 13 : Résultats des antibiogrammes pour les autres souches isolées

Deux souches parmi les 3 sont multi résistantes aux antibiotiques utilisés (*Micrococcus Spp/ Vibrio cholerae*)

Un histogramme comparant la multi-résistance des différentes espèces bactériennes isolées est décrit ci-dessous.



Les Streptocoques isolés sont ceux qui présentent le plus de souches multi-résistantes suivis par les Staphylocoques et en dernier les Entérobactéries.

Discussion

Au cours de notre étude expérimentale qui a débuté en 2015, nous avons pu isoler 84 souches bactériennes isolées de prélèvements d'animaux malades. Environ 85% de ces prélèvements provenant de l'ENSV-Alger.

Notre étude a été réalisée principalement pour trois genres bactériens. Les bactéries ont été isolées à partir d'individus atteints d'otites (49 %), de plaies infectées (23 %) et d'organes d'animaux présentés à l'autopsie (23 %) mais aussi à partir d'écouvillonnages nasaux (2 %), de prélèvements urinaires (2 %) et d'abcès cutanés (1 %).

Sur les 84 prélèvements effectués, nous sommes parvenus à identifier 31 souches (36,90 %) de Staphylocoques, 31 souches (36,90%) de Streptocoques et 19 (22,62%) d'Entérobactéries. Ces bactéries sont en effet les plus incriminées dans les pathologies affectant les animaux, selon le réseau Résapath de surveillance de l'antibio-résistance des bactéries pathogènes chez les animaux.

Les souches de *Staphylococcus* sont des bactéries ubiquitaires faisant partie de la flore de la peau, de la sphère rhino-pharyngée, ou encore de la région périnéale et du rectum. Elles sont responsables d'infections communautaires telles que les otites, les abcès, les impétigos ou encore des surinfections de plaies cutanées. Elles sont aussi impliquées dans des cas de toxi-infections alimentaires et d'infections nosocomiales (Kluytmans et Van Belkum, 1997). Les Streptocoques sont des commensaux habituels des cavités naturelles et des téguments, et, peuvent, dans certaines circonstances particulières, devenir pathogènes pour l'hôte.

Quant aux entérobactéries, elles peuvent être pathogènes spécifiques ou opportunistes du tube digestif de l'homme et des animaux. L'utilisation abusive et excessive d'antibiotiques dans le traitement de ces infections a entraîné l'émergence de souches résistantes et multirésistantes aux antibiotiques (Messai et al, 2008).

Dans notre travail de recherche, nous avons voulu d'une part, identifier les principales bactéries causant des pathologies chez les animaux, et, d'autre part, établir un état des lieux de leur profil de résistance/sensibilité vis-à-vis d'un certain nombre d'antibiotiques cités ci-dessus ;

pour les grams positifs : Erythromycine, Pénicilline, Chloramphénicol, Vancomycine ;

pour les grams négatifs : Colistine, Acide nalidixique, Chloramphénicol, Gentamycine.

Parmi les 3 groupes bactériens isolés ce sont les Streptocoques qui ont montré le pourcentage le plus élevé de multi résistance (64,5%), avec un taux de 90,32 % de résistance à la pénicilline. Cela concorde parfaitement avec les résultats obtenus par Lyskova (2007) qui a décrit une résistance de *Streptococcus intermedius* à la pénicilline à un taux de 66%. Une résistance à la vancomycine a été exprimée par 58,06% des souches de Streptocoques étudiées, quant au taux de résistance à l'érythromycine, il était de l'ordre de 25,81%. Il faut noter cependant que peu de Streptocoques ont présenté une résistance au chloramphénicol (3,23%).

En deuxième place, se positionnent les Staphylocoques avec un taux de multi-résistance de 51,6 %. En effet, plus de la moitié des souches de *Staphylococcus* isolées se sont avérées multi résistantes aux antibiotiques testés, notamment à la Pénicilline (87,10%). Ce résultat confirme ceux obtenus dans le programme de surveillance mis en place par Vétoquinol S.A. en Europe entre 2002 et 2009 (S.Kroemer et al., 2014) , étude dans laquelle on avait enregistré un taux de résistance avoisinant les 80%. Des travaux antérieurs menés à l'ENSV-Alger avait également montré que 93.3% des souches *Staphylocoque aureus* étudiées étaient résistantes à la Pénicilline confirmant ainsi nos résultats (Djebib et Djebib, 2015).

Par ailleurs le taux de résistance à la vancomycine était de 48,39 % et celui à l'érythromycine à un moindre degré 16,13 %.

La troisième position est destinée aux entérobactéries qui ont présenté moins de multi-résistance aux antibiotiques par rapport aux deux genres précédents mais le taux de multi-résistance chez ce genre reste relativement élevé (47,37%) avec un très grand nombre de résistance à la colistine (73,68%).

La fréquence et/ou la gravité de la multi-résistance des bactéries responsables de toutes ces infections bactériennes, traduisent d'énormes difficultés de prise en charge de ces infections liées entre autres au mauvais usage des antibiotiques. Ce phénomène de résistance des bactéries aux antibiotiques représente un problème majeur de santé publique qui ne cesse de prendre de l'ampleur. Les cliniciens se retrouvent très souvent dans une impasse thérapeutique. Pour cela, des programmes mondiaux de surveillances sont régulièrement mis en place pour suivre l'évolution de cette résistance.

On constate que la pénicilline n'a presque plus d'efficacité sur les bactéries à Gram positive vu le nombre de bactéries résistantes à cet antibiotique, tout comme la colistine vis-à-vis des bactéries Gram négative, par contre on constate que le chloramphénicol n'a que de très rares

souches résistantes (2%). Cela pourrait s'expliquer par l'interdiction actuelle de l'usage vétérinaire au chloramphénicol, d'où la sensibilité accrue des bactéries à cet antibiotique.

Conclusion

Nous avons réalisé toutes les étapes de notre partie pratique sous la direction du Dr Azzag, au laboratoire de microbiologie de l'ENSV-Alger. Le principal objectif de notre étude a été d'identifier les profils de résistance des bactéries responsables de pathologies diagnostiquées dans les différents services cliniques à l'ENSV. Au cours de ce travail, nous nous sommes familiarisées avec le matériel et les outils de caractérisation bactérienne. Ainsi, nous avons également participé à la mise en place du protocole d'identification des germes recherchés en passant par la coloration, la microscopie, les tests d'orientation et les galeries Api. Nous avons également maîtrisé la technique de détermination des profils de sensibilité des bactéries aux antibiotiques en réalisant des antibiogrammes. Ainsi, les résultats obtenus nous ont permis d'émettre les conclusions suivantes :

les souches de *Staphylocoques*, de *Streptocoques* et d'*Entérobactéries* sont des agents pathogènes associés à des pathologies fréquemment observées en consultation vétérinaire. Les résultats de notre étude montrent une forte prévalence avec un isolement fréquent lors d'otites (49%) et lors de plaies surinfectées (23%) chez les carnivores domestiques.

L'étude du profil de résistance des souches bactériennes isolées aux antibiotiques révèle un nombre considérable de souches Gram positif multi-résistantes particulièrement aux β -lactamines, et des souches Gram négatif multi résistantes aux polymyxines. Cela peut s'expliquer par la fréquence d'utilisation de ces deux familles d'antibiotiques par les praticiens vétérinaires compte tenu de leurs bas prix comparés aux autres antibiotiques.

En revanche, on note que le chloramphénicol a montré une efficacité quasi-permanente sur les isolats étudiés. Cela peut s'expliquer par l'interdiction de l'usage de ce médicament en médecine vétérinaire.

Les résultats obtenus nous permettent d'affirmer que les bactéries développent une résistance accélérée vis-à-vis des antibiotiques utilisés fréquemment et/ou abusivement.

Ces résultats mettent en évidence donc la prévalence élevée des atteintes Staphylococciques, Streptococciques et Entérobactéries, mais également l'impact engendré lors d'une utilisation abusive et anarchique d'antibiotiques en médecine vétérinaire.

Dans le contexte actuel, et dans l'optique de contrecarrer ce phénomène, il est primordial de maîtriser la diffusion des souches multi-résistantes et ce *via* le contrôle régulier des profils de résistance bactérienne et la révision des paramètres de prescription en clinique vétérinaire.

Références Bibliographiques

1. Abrahamian FM, Goldstein EJC. Microbiology of Animal Bite Wound Infections. *Clin Microbiol Rev.* avr 2011;24(2):231-46.
2. Arbour VM, Currie PJ. Analyzing Taphonomic Deformation of Ankylosaur Skulls Using Retrodeformation and Finite Element Analysis. *PLoS ONE* [Internet]. 22 juin 2012;7(6). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3382236/>
3. Bacteriological and Clinical Study of One Hundred Cases of Scarlet Fever [Internet]. [cité 21 juin 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2167774/>
4. Barber, M. (1964). Naturally occurring methicillin-resistant staphylococci. *Microbiology*, 35(2), 183-190.
5. Bent Mohamed et mint sidi baba, (2007-2008), Manuel de travaux pratique de microbiologie. Université de Nouakchott.
6. Berdy J. (2005).- Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiotics* 58, 1–26.
7. Berdy J., Aaszalos A. and Mc Nitt K.L. (1987). - CRC Handbook of antibiotic compounds. Vol. XIII. Microbial metabolites. part 1,2,3. Florida, USA. CRC Press, Boca Raton.
8. Bergogne-Bérézin, E., & Dellamonica, P. (1999). *Antibiothérapie en pratique clinique*. (DEPRECIATED).
9. Bernard Toma (2011). *Les zoonoses infectieuses bactériennes et virale*, Cercle des Elèves, École Nationale Vétérinaire d'Alfort,. Provient de Université de Cornell. 268 p
10. Biokar diagnostics,(2004) Biokar diagnostics: products for microbiobiology
11. Bouchard, Loeffler, (1882) volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan.
12. Bourdeau P, (1994) Le Point Vétérinaire. Numéro spécial "Biologie Clinique".
13. Cattoir V. (2004).- Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie. Biologie*, 52, 607–616
14. Cavallo J.D. (2004). Betalactamines,. Elsevier, 130-180.
15. Cole MF, Bryan S, Evans MK, Pearce CL, Sheridan MJ, Sura PA, et al. Humoral Immunity to Commensal Oral Bacteria in Human Infants: Salivary Antibodies Reactive with *Actinomyces naeslundii* Genospecies 1 and 2 during Colonization. *Infect Immun.* sept 1998;66(9):4283-9.

16. Darnell et al. 1993 P21 Progrès des recherches pharmaceutiques 334P
17. Davidson, L., Chinman, M., Kloos, B., Weingarten, R., Stayner, D., & Tebes, J. K. (1999). Peer support among individuals with severe mental illness: A review of the evidence. *Clinical psychology: Science and practice*, 6(2), 165-187.
18. Delarras,(2014) pratique en microbiologie de laboratoire , recherche de bactéries et de levures-moisissures
<https://books.google.dz/books?id=MSXJAwAAQBAJ&pg=PA623&dq=composition+de+chapman++Rouge+de+ph%C3%A9nol++peptone+Mannitol&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKEwjnaH-jMvPAhULsxQKHbLXCFYQ6AEIGjAA#v=onepage&q&f=true>
19. Demerc, 194, P24 Journal Omaha Midwest society
20. European food Safety Authority [EFSA], (2012). Katan, M. B. (2012). Why the European Food Safety Authority was right to reject health claims for probiotics. *Beneficial microbes*, 3(2), 85
21. Fauchere J.L. et Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Editions Ellipses, p : 105- 111.
22. Ferenčík M, Štvrtinová V, Hulín I. Defects in Regulation of Local Immune Responses Resulting in Atherosclerosis. *Clin Dev Immunol*. sept 2005;12(3):225-34.
23. Flandrois, (1997) P34 Bactériologie médicale. Presse universitaire Lyon, 309P
24. François Pebret, (2003) Maladies infectieuses. Toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Institut de formation en soins infirmiers, 592 P.
25. Gibbs, R. A., Belmont, J. W., Hardenbol, P., Willis, T. D., Yu, F., Yang, H., ... & Tam, P. K. H. (2003). The international HapMap project. *Nature*, 426(6968), 789-796.
26. Harvey P, Bayardelle P, Bélanger R, Fortin L. Sacroiliitis and septicemia caused by *Campylobacter rectus* and *Actinomyces odontolyticus*. *Can J Infect Dis*. 1994;5(3):133-6.
27. Henri hubert mollaret (1990) « pasteurellose » volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan
28. Henri Hubert Mollaret (1990) « Lyme maladie de » volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan
29. Hoelzer et al., (2011). Salmonella in Domestic Animals. 547P
30. <http://www.123bio.net> P20

31. <https://ed414-openlab.unistra.fr> P22
32. Jean Pierre Flandrois, (1997) Bactériologie médicale. Université de Lyon.
33. Jean-Michel Alonso, (1990) volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan.
34. Jourdan Da Silva et Le Hello, (2012) Pratique en microbiologie de laboratoire
35. Konte, M., Vassiliades, G., & Leforban, Y. (1990). Prélèvements biologiques pour analyses au laboratoire.
36. Kumarasamy, K. K., Toleman, M. A., Walsh, T. R., Bagaria, J., Butt, F., Balakrishnan, R., ... & Krishnan, P. (2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*, 10(9), 597-602.
37. Lamari L. (2006).- Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat d'Etat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
38. Le Minor, L., & Véron, M. (Eds.). (1982). *Bactériologie médicale*. Flammarion médecine-sciences.
39. Lederberg, J., & Tatum, E. L. (1946). Gene recombination in *Escherichia coli*. *Nature*, 158, 558.
40. Leyral, G., & Vierling, E. (2007). *Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires*. Wolters Kluwer France.
41. L'ordre des médecins vétérinaires du Québec., (2002), Le Médecin vétérinaire du Québec, Volumes 32 à 33. Université de Cornell
42. Louis Joubert, « Morve », volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan.
43. Lwoff, A., Siminovitch, L., & Kjeldgaard, N. (1950). Induction de la lyse bactériophagique de la totalité d'une population microbienne lysogène. *COMPTE RENDUS HEBDOMADAIRES DES SEANCES DE L'ACADEMIE DES SCIENCES*, 231(2), 190-191.
44. Lyon-Hartmann B, Goldstein CM. Recommended data elements for the descriptive cataloging of computer-based educational materials in the health sciences. *Libr Resources Tech Serv*. 1978;22(2):191-5.

45. M. Konte, G.Vassiliades, et Y. Leforban, (1990) Prélèvements biologiques pour analyses aux laboratoires. Réalisé par : La direction des recherches sur la santé et les productions Animales
46. Marcel Capponi, (1990), volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan.
47. Messai Y., Iabadene H., Benhassine T., Alouache S., Tazir M., Guatier V., Arlet G., Bakour R. (2008).- Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie.*, G, 319-325.
48. Michel Privat De Garilhe (1990) Tularémie, volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan.
49. Michel Ruel « Lyme maladie de » volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan
50. Milcent R. (2003).- Chimie organique hétérocyclique, Editeur: EDP SCIENCES pp, 85-90.
51. Moore *et al.*, (2005); Colin, (2006) Chemaly *et al.*, (2012); EFSA, (2012)
52. Office International des Épizooties, (1970) Bulletin, Volume 73, Numéros 1 à 6, provient de l'Université de Californie
53. Palmer et al., (2011) « Leptospira and Leptospirosis » volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan
54. Paul M.V. et Martin, (1990) « Listériose », volume 12 de Encyclopaedia universalis. Université du Michigan
55. Pilet C, Person JM, Frottie J, Bastin R, Barrat F. [Lymphoblast transformation test and the diagnosis of chronic brucellosis]. *Bull Acad Natl Med.* nov 1983;167(8):845-8.
56. Prescott LM., Harley J.P., Klein D.A., Bacq-Calberg C.M. and Dusart J., (2002).- Microbiologie. De Boeck University. 1147p.
57. Saijonmaa-Koulumies LEM, Myllys V, Lloyd DH. Diversity and stability of the *Staphylococcus intermedius* flora in three bitches and their puppies. *Epidemiol Infect.* oct 2003;131(2):931-7.
58. Schwarz, S., and E. Chaslus-Dancla. 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance.

59. Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamzaoui SA. [Frequency and antibiotic susceptibility of bacteria identified in urine]. *Med Mal Infect.* juin 2008;38(6):324-7.
60. Smith A.L., Erwin, A.L, Kline T., William C.T., Unrath K.N., Weber A. and Howald W.N. (2007).- Chloramphenicol is a substrate for a novel nitroreductase pathway in *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, p. 2820–2829.
61. Smith et al.,(2009). Emergence de maladies infectieuses: Risques et enjeux de société
62. Support de biologie expérimentale, Université de Genève. (2007)
63. Talan DA. New concepts in antimicrobial therapy for emergency department infections. *Ann Emerg Med.* oct 1999;34(4 Pt 1):503-16.
64. Teng F, Kawalec M, Weinstock GM, Hryniewicz W, Murray BE. An Enterococcus faecium Secreted Antigen, SagA, Exhibits Broad-Spectrum Binding to Extracellular Matrix Proteins and Appears Essential for E. faecium Growth. *Infect Immun.* sept 2003;71(9):5033-41.
65. Touati A., 2006.- Caractérisation des phénotypes de résistance acquis aux β -lactamines des souches d'entérobactéries isolées dans les hôpitaux de Béjaia. Doctorat soutenu à l'Université A. Mira de Béjaia.
- Viable but nonculturable state as a general phenomenon of non-sporeforming bacteria, and its modeling - *Journal of Infection and Chemotherapy* [Internet]. [cité 21 juin 2017]. Disponible sur: [http://www.jiac-j.com/article/S1341-321X\(00\)71325-0/pdf](http://www.jiac-j.com/article/S1341-321X(00)71325-0/pdf)
66. Vigot, (1921) Des prélèvements; leur technique en vue des examens bactériologiques, chimiques, parasitologiques et biologiques: les plus couramment utilisés. 96 P Auteur J. Legeay, André Liot
67. Woodruff HB. Selman A. Waksman, Winner of the 1952 Nobel Prize for Physiology or Medicine. *Appl Environ Microbiol.* janv 2014;80(1):2-8.
68. www.antibiotique.eu P27
69. Yala D., Merad A.S., Mohammedi D. and Ouar Korich M.N. (2001).- Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91, 5-12.

Annexes

Annexe 01

I. Milieu Chapman

1. Composition du milieu (Delarras, 2014)

- Tryptone.....	05,0 g
- Peptone pepsique de viande	05,0 g
- Extrait de viande	01,0 g
- Mannitol	10,0 g
- Chlorure de sodium	75,0 g
- Rouge de phénol	25,0 mg
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g
- Eau distillée	1000 mL
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.	

2. Préparation

Mettre en suspension 111,0 g de milieu déshydraté (BK030) dans 1000 mL d'eau distillée. Porter ensuite lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et jusqu'à dissolution complète. Répartir en tubes ou en flacons puis stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

II. Milieu Hektoën

1. Composition du milieu (Delarras, 2014)

- Peptone pepsique de viande.....	12,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	03,0 g
- Lactose.....	12,0 g
- Saccharose	12,0 g
- Salicine.....	02,0 g
- Sels biliaires	09,0 g
- Chlorure de sodium.....	05,0 g
- Thiosulfate de sodium	05,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal	01,5 g
- Bleu de bromothymol	65 mg
- Fuchsine acide	40 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g
- Eau distillée	1000 mL