

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master

en

Médecine vétérinaire

THEME

Etude de sensibilité aux antibiotiques des
souches de *Staphylococcus aureus* et
Campylobacter jejuni d'origine bovine

Présenté par :

Mr ABDELDJELIL Imad Rami

Mr ZERRADI Ismail

Soutenu publiquement, le 17 Novembre 2020 devant le jury :

Mme BAAZIZI R.

MCA (ENSV)

Présidente

Mr BAROUDI D.

MCA (ENSV)

Examineur

Mme GUESSOUM M.

MCB (ENSV)

Promotrice

2019-2020

DEDICACES

Je consacre notre humble travail :

A ma mère, à mon père, à mes sœurs et à mes frères ; qu'Allah leur accorde une longue vie.

*À mon encadreur, **madame GUESSOUM M.**, à qui revient le mérite de son aide pour l'accomplissement de ce travail.*

À tous les enseignants qui ont travaillé dur pour accomplir leur noble mission et pour remplir leur grande tâche seulement.

*À tous nos collègues, nos amis, **A. Rachid, C. Abdelileh, H. Halim, B. Mourad, K. Abdenour B. Akram et S. Saber.***

*Nous remercions également les vétérinaires de la wilaya d'Ain Temouchent en particulier **Dr. HALHALI Abdelsamed** ainsi que les fonctionnaires de la direction des services agricoles qui nous ont facilité tout durant la réalisation de ce projet.*

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous tenons à remercier ALLAH tout-puissant, le plus Miséricordieux, pour son soutien qui nous a donné la capacité, la patience et la force de réaliser cette modeste œuvre.

Deuxièmement, nous aimerions exprimer notre sincère gratitude à notre superviseur Mme GUESSOUM M. pour sa disponibilité et sa supervision continue pendant l'exécution de notre travail.

Notre chaleureux remerciements s'adressent aussi à Dr BAAZIZI R. d'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je remercie également Dr BAROUDI D. qui a accepté d'être examinateurs de ce travail.

Nous voudrions exprimer notre gratitude à tous les enseignants qui nous ont aidés tout au long de ces 5 grandes années.

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

DECLARATION SUR L'HONNEUR

Nous soussignés, **ABDELDJELIL Imad** et **ZERRADI Ismail**, étudiants de l'école nationale supérieur vétérinaire.

Attestent sur l'honneur que le présent document a été écrit de nos mains, que ce travail est original et que toutes les sources d'information externes et les citations d'auteur ont été mentionnées conformément aux usages en vigueur (nom de l'auteur, nom de l'article, éditeur ; année).

Signatures des étudiants

Two handwritten signatures in blue ink. The first signature on the left is a stylized 'A' followed by 'D'. The second signature on the right is a stylized 'Z' followed by 'I'.

Résumé

Les antibiotiques sont des molécules qui induisent l'inhibition ou la destruction des bactéries. Leurs utilisations abusives à entrainer une émergence des souches résistantes. Une technique de laboratoire qu'on appel l'antibiogramme peut révéler cette antibioresistance.

Notre étude expérimentale qui est basée sur la technique citée ci-dessus, avait pour but de mesurer la sensibilité de deux bactéries isolées chez le bovin (*Staphylococcus aureus* et *Campylobacter jejuni*) à trois antibiotiques (érythromycine, tetracycline et la ciprofloxacine). Il est a noté que 8 souches pour chaqu'une des deux bactéries sont étudiées.

Les résultats ont montré que la résistance à l'érythromycine est faible par rapport à celles des deux autres antibiotiques. En effet le taux de résistance à la tétracycline est préoccupant.

Ces résultats concordent avec ceux apportés par l'enquête décrite dans le pfe intitulé : enquête sur l'utilisation des antibiotiques chez le bovin dans la wilaya d'Ain Temouchent.

Mots clé : antibiotique, antibiogramme ; antibioresistance.

ملخص

المضادات الحيوية هي جزيئات تسبب تثبيط البكتيريا أو تدميرها. أدى سوء استخدامها إلى ظهور سلالات مقاومة. يمكن لتقنية معملية تسمى أنتيبايوجرام أن تكشف عن المقاومة للمضادات الحيوية.

هدفت دراستنا التجريبية ، التي تستند إلى التقنية المذكورة أعلاه ، إلى قياس حساسية نوعين من البكتيريا المعزولة من الماشية (*Staphylococcus aureus* و *Campylobacter jejuni*) لثلاثة مضادات حيوية (الإريثروميسين والتتراسيكلين والسيبروفلوكساسين). وأشار إلى أنه تمت دراسة 8 سلالات لكل من البكتيريا.

أظهرت النتائج أن مقاومة الاريثروميسين منخفضة مقارنة بالمضادات الحيوية الأخرى. في الواقع ، معدل مقاومة التتراسيكلين مقلق.

تتوافق هذه النتائج مع تلك التي قدمها المسح الموصوف في Pfe بعنوان: مسح حول استخدام المضادات الحيوية في الأبقار بولاية عين تموشنت.

الكلمات المفتاحية: مضاد حيوي ، أنتيبايوجرام ؛ مقاومة المضادات الحيوية.

Summary

Antibiotics are molecules that cause the inhibition or destruction of bacteria. Their misuse has resulted in the emergence of resistant strains. A laboratory technique called an antibiogram can reveal this antibiotic resistance.

Our experimental study, which is based on the technique cited above, aimed to measure the sensitivity of two bacteria isolated from cattle (*Staphylococcus aureus* and *Campylobacter jejuni*) to three antibiotics (erythromycin, tetracycline and ciprofloxacin). noted that 8 strains for each of the two bacteria are studied.

The results showed that resistance to erythromycin is low compared to that of the other two antibiotics. Indeed, the rate of resistance to tetracycline is worrying.

These results are consistent with those provided by the survey described in the pfe entitled: survey on the use of antibiotics in cattle in the wilaya of Ain Temouchent.

Keywords: antibiotic, antibiogram; antibiotic resistance.

Liste des figures

Figure 01 : détermination de la CMI par diffusion	4
Figure 02 : exemple de détermination de la CMI d'un antibiotique par dilution	4
Figure 03 : classification S, I ou R <i>via</i> la mesure du diamètre d'inhibition (antibiogramme en milieu gélosé) ou de la CMI (en milieu liquide)	6
Figure 04 : mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.	10
Figure 05 : laboratoire de microbiologie ENSV	12
Figure 06 : matériel non biologique utilisé dans notre étude	13
Figure 07 : les souches bactériennes étudiées	14
Figure 08: quelques disques d'antibiotiques utilisés.	16
Figure 09 : dépôt des disques des antibiotiques	16
Figure 10 : mesure des diamètres des zones d'inhibition à l'aide de pied de coulisse	17
Figure 11 : lecture des résultats.....	18
Figure 12 : taux de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	19
Figure 13 : taux de résistance des souches de <i>Campylobacter jejuni</i>	20

Liste des tableaux

Tableau 01 : origine de différentes souches bactériennes.	14
Tableau 02: tableau des antibiotiques testés pour les souches de <i>S. aureus</i> et l'interprétation des diamètres d'inhibition	15
Tableau 03: disques d'ATB testés et leurs charges pour les <i>Campylobacter jejuni</i>	15
Tableau 04 : taux de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
Tableau 05 : taux de résistance des souches de <i>Compylobacter jejuni</i>	19
Tableau 06 : profils d'antibio-résistance des 08 souches de <i>S. aureus</i> testées.	20
Tableau 07 : profils d'antibio-résistance des 08 souches de <i>C. jejuni</i> testées.	20

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
I. Définition.....	2
II. Origine de la résistance.....	2
III. Méthode de mesure de la résistance bactérienne.....	3
III.1 Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	3
III.2 Les antibiogrammes.....	5
IV. Modes d'émergence de la résistance bactérienne.....	7
IV.1 Résistance naturelle.....	7
IV.2 Résistance acquise.....	8
IV.3 Résistance croisée et Co-résistance.....	9
V. Les mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne.....	9
V.1 L'inactivation enzymatique.....	9
V.2 La modification ou l'occultation de la cible de l'antibiotique.....	9
V.3 Résistance par diminution de la perméabilité.....	9
V.4 La diminution de la concentration intracellulaire en antibiotique.....	10
VI. Le support génétique de la résistance	10
PARTIE EXPERIMENTALE.....	12
I. Objectif de l'étude.....	12
II. Lieu de l'étude.....	12
III. Matériel.....	12
III.1 Matériel non biologique.....	12
III.2 Matériel biologique.....	13
IV. Méthodes.....	14
IV.1 Préparation des géloses.....	14

IV.2 Étude de la sensibilité aux antibiotiques.....	15
IV.3 Lecture.....	17
V. Résultats.....	18
CONCLUSION.....	21
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	22

Introduction

Depuis leur découverte il y a moins d'un siècle, les antibiotiques ont occupé une place de plus en plus importante dans l'arsenal thérapeutique médical. Leur large utilisation néanmoins entraîné l'émergence de résistances bactériennes à l'égard d'une grande partie de ces antibiotiques. Cette résistance bactérienne constitue de nos jours une préoccupation sanitaire internationale, tant pour la santé humaine que pour la santé animale **(COUSTES, 2016)**.

Le développement de ces résistances et la sélection de germes multi-résistants pourraient mettre en péril l'efficacité de la thérapie anti-infectieuse moderne, c'est pour cela, il est indispensable d'utiliser les antibiotiques correctement, et seulement lorsque c'est nécessaire. Pour réduire leur usage, et donc limiter l'apparition de résistances, l'antibiogramme constitue une piste prometteuse **(MAITRE, 2018)**.

L'antibiogramme est un examen de laboratoire visant à déterminer la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques. Son principe de base est de mettre en contact des bactéries (prélevées chez un animal malade) avec plusieurs antibiotiques **(L'équipe Passeport Santé, 2015)**.

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et à l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles **(DIEN, 2016)**.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* et de *Campylobacter jejuni* isolées chez les bovins à partir de différents prélèvements vis-à-vis des principaux antibiotiques utilisés dans le traitement des infections dues à ce germe.

Revue bibliographique

I. Définition de l'Antibio-résistance

Plusieurs définitions ont été proposées pour l'antibiorésistance, elles dépendent du domaine dans lequel elle est étudiée **(GUILLEMOT et al., 2006)**.

→ En clinique, une souche bactérienne est dite résistante en cas d'échec thérapeutique avec l'antibiotique utilisé.

→ Pour les pharmacologues, une souche est qualifiée de résistante si la concentration qu'elle atteint au niveau du site d'action est inférieure à la CMI.

→ En microbiologie, une souche résistante est une souche qui dispose d'un mécanisme de résistance lui permettant d'augmenter sa CMI.

→ Enfin, en épidémiologie, c'est la variation de la CMI d'une souche par rapport à celle de la population habituelle qui lui confère le statut de résistante.

C'est finalement à Chabbert que l'on doit la définition générale et synthétique de l'antibiorésistance suivante : « Une souche est dite résistante à un antibiotique lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de tolérer des concentrations d'antibiotique nettement plus élevées que celles qui inhibent la croissance in vitro de la majorité des autres souches de la même espèce, dites sensibles » **(GUERIN-FAUBLE, 2010)**.

D'autre part, il convient également de distinguer les niveaux de résistance. On parle de résistances « à haut niveau » si l'augmentation relative de la CMI chez la souche considérée est importante et « à bas niveau » si elle est faible **(GUERIN-FAUBLE, 2010)**.

II. Origine de la résistance

Les premiers antibiotiques, découverts au début du XX^{ème} siècle, étaient des substances naturelles ou semi-synthétiques produites par des champignons ou des bactéries, leur permettant ainsi de concurrencer d'autres micro-organismes pour les substrats. Les bactéries ont donc été en contact avec les antibactériens bien avant la mise

en évidence de leurs vertus thérapeutiques, ces derniers exerçant donc sur les souches une pression de sélection à bas bruit (SCHWARTZ, CHALSUS, DANCLA, 2001).

III. Méthodes de mesure de la résistance bactérienne

III.1 Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Pour mesurer microbiologiquement la résistance d'une bactérie, la notion communément utilisée dans le monde scientifique est la concentration minimale inhibitrice (CMI) (ENRIQUEZ, 2007).

La CMI représente la première concentration en antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée. La mesure de la CMI est souvent accompagnée de la mesure de la concentration minimale bactéricide (CMB).

Elle correspond à la concentration permettant de réduire la population bactérienne d'un facteur 1000 (AFSSA, 2006).

Deux méthodes peuvent être utilisées pour déterminer cette CMI :

- **Par diffusion**

On dépose sur un milieu gélosé préalablement ensemencé, un disque imprégné d'une concentration connue en antibiotique.

Il existe donc un gradient de concentration autour du disque car l'antibiotique a diffusé dans toute la gélose.

Le rayon à partir duquel la croissance bactérienne s'effectue détermine la CMI. Ceci est illustré sur la figure 01.

Cette méthode est peu adaptée à certaines familles d'antibiotiques qui diffusent mal comme les polypeptides (ENRIQUEZ, 2007).

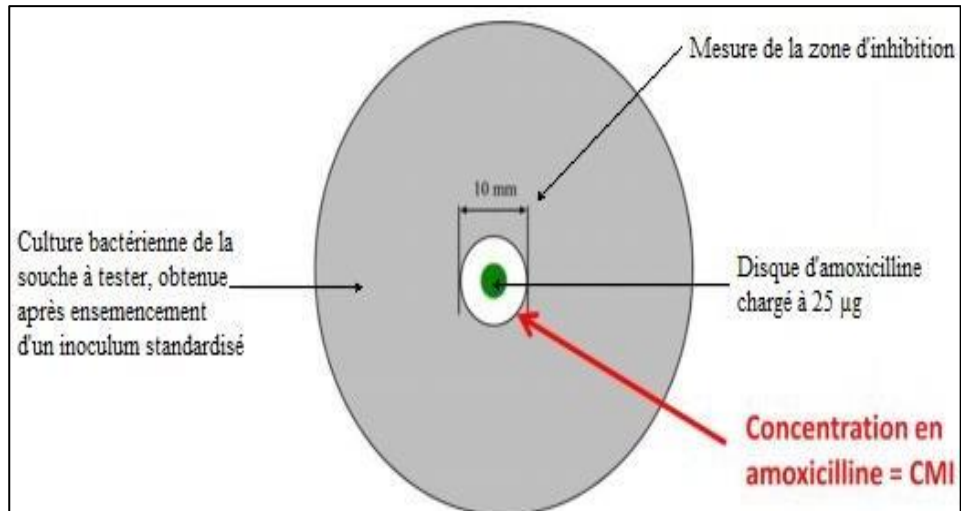


Figure 01 : détermination de la CMI par diffusion (ENRIQUEZ, 2007).

- **Par dilution**

Une série de dilutions d'un antibiotique donné est ensemencée avec une quantité connue de la bactérie à étudier. Après incubation, le premier tube dans lequel aucune croissance bactérienne n'est visible indique la CMI.

On peut illustrer ceci à l'aide de la figure 02 : plus le tube est grisé, plus la croissance bactérienne est importante. Lorsqu'il est blanc, il n'y a pas de croissance. (ENRIQUEZ, 2007).

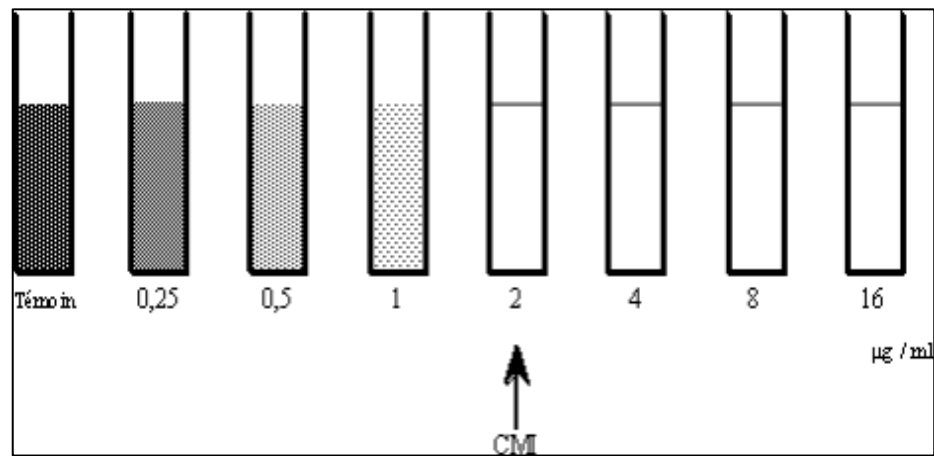


Figure 02 : exemple de détermination de la CMI d'un antibiotique par dilution (ENRIQUEZ, 2007).

III.2. Les antibiogrammes

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, et supposée être à l'origine d'un processus infectieux.

Il s'agit d'une aide au choix du traitement d'une infection qui ne doit être réalisé qu'à bon escient, c'est-à-dire lorsqu'il existe une forte probabilité que la bactérie isolée soit impliquée dans le processus infectieux.

Sa réalisation pour une bactérie non pathogène engage la responsabilité du biologiste car elle peut inciter le clinicien à un traitement inutile, voire dangereux pour le patient, et s'il est relativement aisé d'identifier les situations où l'antibiogramme est utile, voire obligatoire, il est parfois beaucoup plus délicat d'identifier celles où il est inutile.

Enfin, le traitement d'une infection par un antibiotique décrété actif par un antibiogramme ne garantit pas le succès thérapeutique, alors qu'utiliser un antibiotique auquel la bactérie est résistante est synonyme d'échec (JEHL F et al, 2015).

L'antibiogramme permet de classer une souche pathogène dans une des trois catégories suivantes :

- **Sensibles (S)**, les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un diamètre supérieur ou égal au diamètre critique D.
- **Résistantes (R)**, les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute (C), correspondant à un diamètre strictement inférieur au diamètre critique d.
- **De sensibilité intermédiaire (I)**, les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et le diamètre correspondant sont compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques.

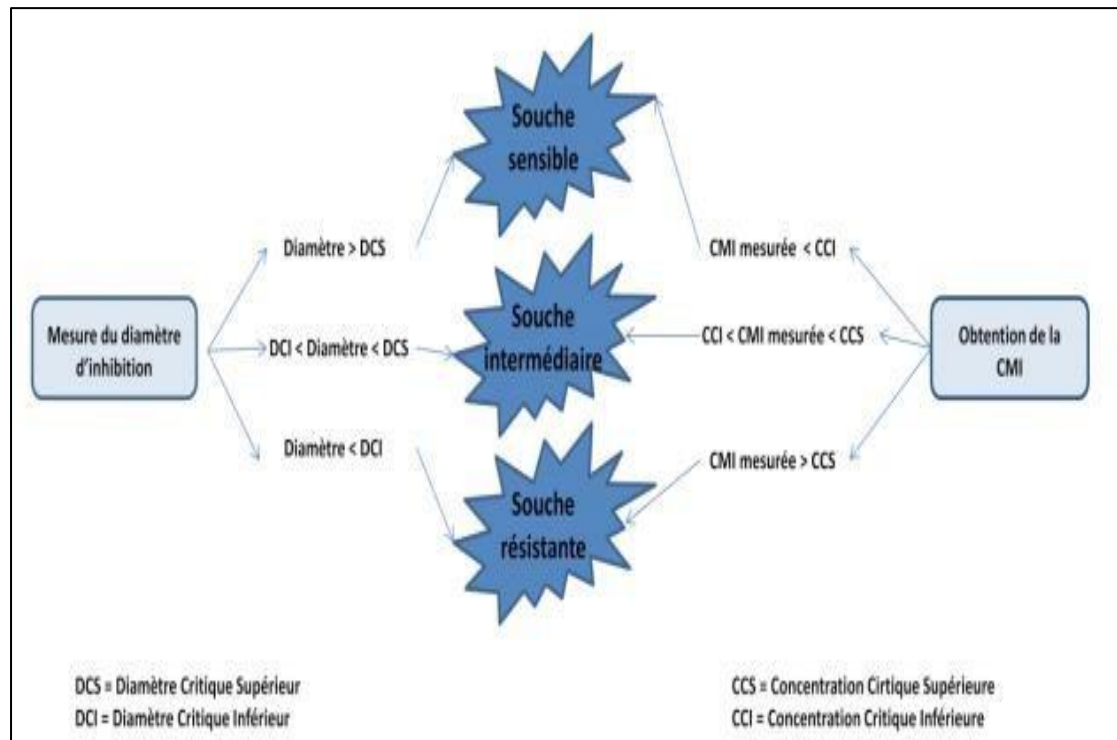


Figure 03 : classification S, I ou R *via* la mesure du diamètre d'inhibition (antibiogramme en milieu gélosé) ou de la CMI (en milieu liquide) (**GUILLEMOT *et al.*, 2006**).

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et à l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles (**SEYDINA M., 2016**).

III.3.1 Les limites de l'antibiogramme :

La réalisation d'un antibiogramme est soumise au respect de conditions techniques qui sont parfois incomplètement et insuffisamment respectées.

Un antibiogramme réalisé de manière non standardisée et sur un mélange de germes non identifiés est dépourvu de sens.

Tout laboratoire devrait vérifier la validité de sa technique en testant, au moins une fois par mois, la sensibilité des souches de référence et vérifier que les diamètres des zones d'inhibition obtenues vis-à-vis des divers antibiotiques sont conformes aux

valeurs publiées par le Comité de l'Antibiogramme.

Les techniques de l'antibiogramme ont été standardisées uniquement pour les bactéries cultivant rapidement sur milieux usuels. Lorsque la souche isolée ne rentre pas dans ce cadre, l'interprétation est parfois délicate.

Les causes d'erreur (**BURNICHON N et al, 2003**) :

- Composition du milieu.
- L'inoculum.
- L'épaisseur de gélose et caractère plan des boîtes plastiques.
- Atmosphère d'incubation.
- Temps de croissance des bactéries.
- Stockage et péremption des disques.
- Durée d'incubation

IV. Modes d'émergence de la résistance bactérienne

IV.1 Résistance naturelle

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

La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. Inversement, la résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien.

La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques (**FAUCHERE ET AVRIL, 2002**).

Ses mécanismes biochimiques sont nombreux et quelques uns d'entre eux sont cités ci-dessous.

- Les bacilles à Gram négatif (et notamment les entérobactéries dont *K.p* et *Pseudomonas aeruginosa*) sont naturellement résistants, le plus souvent à bas niveau,

aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, novobiocine, vancomycine) car ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi. *Klebsiella pneumoniae* est naturellement résistante à l'amoxicilline, ampicilline et à la ticarcilline, grâce à une β -lactamase chromosomique naturelle (PINA et al., 2000).

- Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies. Pour les mêmes raisons, les bactéries aéro-anaérobies facultatives sont moins sensibles aux aminosides lorsqu'elles sont placées dans un environnement pauvre en oxygène.
- Certaines espèces (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus cereus*, *Nocardia* spp., ...) produisent naturellement des β -lactamases. (EUZEBY, 2009).

IV.2 Résistance acquise

Elle existe grâce à l'acquisition d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance qui déterminent un phénotype bien précis de résistance, différent du phénotype sauvage, caractérisant les souches n'ayant pas acquis ce mécanisme. Elle ne concerne qu'une population plus ou moins importante de souches d'une espèce (MEYER et al., 2004).

La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était faible. Ultérieurement, la généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes et on constate, quotidiennement, que de très nombreuses souches ne se comportent pas à l'égard des antibiotiques conformément à ce que les spectres d'activité permettraient de le supposer.

Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques (MEYER et al., 2004).

IV.3 Résistance croisée et Co-résistance

La résistance croisée résulte d'un seul mécanisme biochimique et concerne des antibiotiques appartenant à la même famille

La Co-résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistance impliqués) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles (**EUZEBY, 2009**).

V. Les mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne

V.1 L'inactivation enzymatique

Il s'agit de la production par la bactérie d'une enzyme qui induit une modification de la molécule antibiotique, aboutissant au final à son inactivation. C'est un moyen de défense mis en œuvre contre de nombreuses familles d'antibiotiques comme les bêta-lactamines ou les aminosides (**MUYLAERT et al., 2012**).

V.2 La modification ou l'occultation de la cible de l'antibiotique

Une variation au niveau du site d'action, protection par des protéines spéciales empêchant celui-ci de se lier à sa cible ou remplacement de cette dernière par une molécule pour laquelle l'antibactérien aura une affinité moindre sont autant de mécanismes d'échappement d'une bactérie à un antibiotique (**SCHWARZ et al., 2001**).

V.3 Résistance par diminution de la perméabilité

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut d'abord qu'il pénètre dans la bactérie et tout facteur altérant la perméabilité cellulaire est cause de résistance. Ce mécanisme n'affecte pas les "Gram positifs" car les antibiotiques diffusent librement à travers le peptidoglycane qui constitue la paroi de ces bactéries. Chez les bactéries à Gram négatif, au contraire, la barrière constituée par le lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe s'oppose à la pénétration des antibiotiques mais des porines, protéines formant canaux, permettent le passage de molécules hydrophiles comme les pénicillines à large spectre, les céphalosporines, les aminosides, les phénicolés ou les tétracyclines (**CARLE., 2009**).

Des mutations entraînant des modifications quantitatives ou qualitatives de ces porines sont responsables de résistances acquises souvent croisées à plusieurs familles d'antibiotiques (CARLE., 2009).

V.4 La diminution de la concentration intracellulaire en antibiotique

Ceci met en jeu deux mécanismes différents qui sont une réduction de l'entrée de l'antibactérien dans la cellule par une augmentation de l'efflux de ce dernier par activation de systèmes actifs de transport (protéines transmembranaires par exemple) (SCHWARZ et al., 2001).

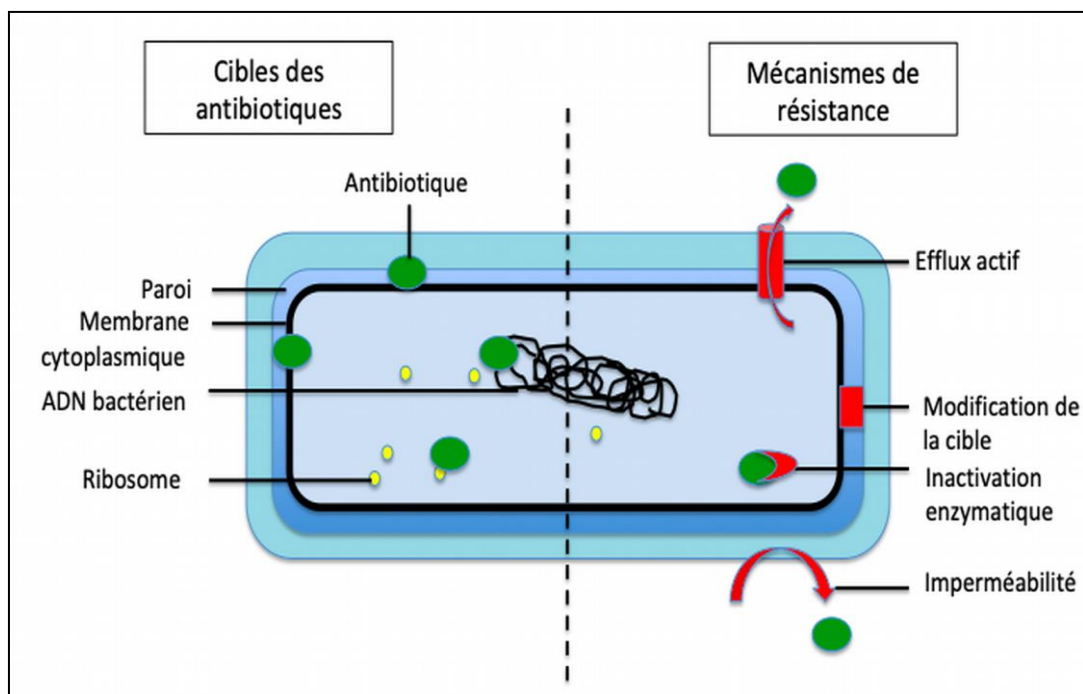


Figure 04 : mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques (JEHL et al, 2012).

VI. Le support génétique de la résistance

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué du chromosome et d'un ou de plusieurs génophores facultatifs et extra-chromosomiques, les plasmides. Des gènes sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes

génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique (**WRIGHT G.D., 2005**).

Partie expérimentale

I. Objectif de l'étude

Notre travail a été effectué durant la période Aout – Septembre de l'année 2020 au niveau de laboratoire de microbiologie, dans lequel nous avons réalisé un ensemble d'analyses microbiologiques sur les différentes souches de *Staphylococcus aureus* et *Campylobacter jejuni* isolées à partir des différents prélèvements d'origine bovin. Pour but d'étudier la sensibilité de ces souches aux antibiotiques.

II. Lieu de l'étude

Cette étude a été réalisée, au niveau de laboratoire de microbiologie spécialisée, département Préclinique, de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) Alger.



Figure 05 : laboratoire de microbiologie ENSV (photo personnelle , 2020).

III. Matériel

III.1 Matériel non biologique

Tout le matériels (Réactifs chimiques, milieux de culture et équipements de laboratoire) utilisé dans notre étude est présenté dans la figure suivante.

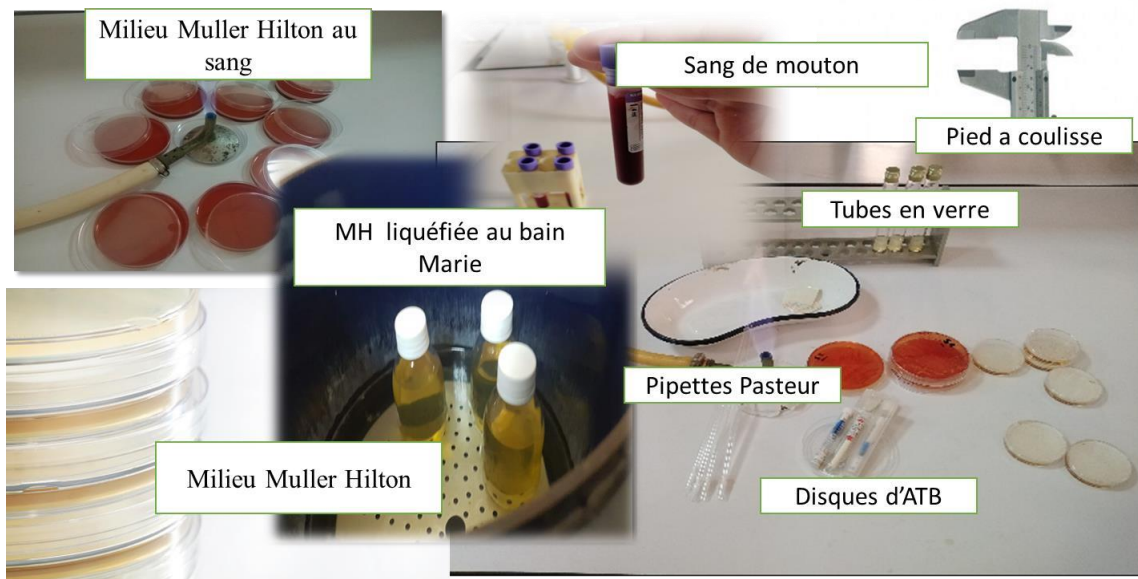


Figure 06 : matériel non biologique utilisé dans notre étude (photo personnelle, 2020).

III.2 Matériel biologique

Un total de 16 souches a fait l'objet de notre expérimentation. Les différentes souches ont été isolées dans des études réalisées auparavant par Dr. Guessoum et les étudiants dans des différents projets de fin d'étude au sein de notre école et conservées dans des milieux de conservation convenables. Répartie en 8 souches de *Staphylococcus aureus* et 8 autres souches de *Campylobacter jejuni*.

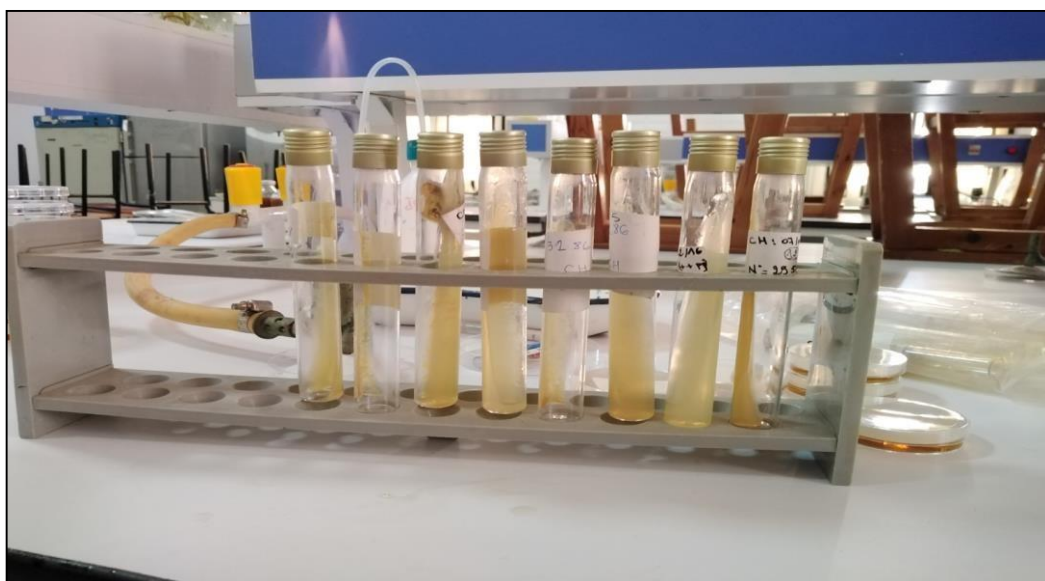


Figure 07 : les souches bactériennes étudiées (photo personnelle, 2020).

▪ **La Conservation des souches**

⇒ Les souches de *Staphylococcus aureus* ont été conservées en duplicata dans un bouillon (Tryptone soja et glycérol) au congélateur à -20°C et dans de la gélose de conservation à +4°C au réfrigérateur.

⇒ Les souches de *Campylobacter jejuni* ont fait l'objet d'une conservation dans des cryo-tubes remplis d'un milieu de conservation des souches bactérienne qui correspond à 2 Volumes d'un bouillon de culture (BHIB) additionnée à un volume Glycérol et aussitôt congelé à -80°C.

Comme nous montre le tableau suivant, les souches bactériennes sont issues de différents types de prélèvements d'origine bovine.

Tableau 01 : origine de différentes souches bactériennes.

Souches bactérienne	Nombre de souche	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i>	08	Lait Pus
<i>Campylobacterjejuni</i>	08	Fèces Viande

IV. Méthodes

IV.1 Préparation des géloses

Pour réaliser cette gélose, nous avons suivi les étapes décrites ci-dessous :

- Nous avons procédé à la stérilisation des récipients dans l'autoclave.
- La base (Muller Hinton) a été liquéfiée au bain -Marie.
- Spécialement pour les souches de *Campylobacter jejuni* , une fois que cette base a été refroidis (45°C) , nous avons ajouté stérilement 6ml de sang dans 118ml de gélose nutritive ,afin d'obtenir une concentration finale en sang de 5%.
- La préparation est alors coulée en boite de pétri en évitant la formation de bulles.

IV.2 Étude de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* et des souches de *Campylobacter jejuni* aux antibiotiques a été testée par la méthode de diffusion en gélose Mueller-Hinton selon les recommandations de l'EUCAST 2019 et CASFM 2019 respectivement.

Tableau 02: tableau des antibiotiques testés pour les souches de *S. aureus* et l'interprétation des diamètres d'inhibition (l'EUCAST 2019).

Antibiotiques	Abréviation	Charge	Diamètres critiques	
			Sensible	Résistant
Tétracycline	TE	30	>22	<19
Erythromycine	EM	15	>21	<18
Ofloxacin	OFX	5	>20	<20

Tableau 03: disques d'ATB testés et leurs charges pour les *Campylobacter jejuni* (SOUSSY *et al.*, 2010).

Nom d'antibiotique	Abréviation	Charge des disques
Erythromycine	E	15 UI
Ciprofloxacine	CIP	5 µg
Tétracycline	TE	30 UI

Le test de sensibilité aux antibiotiques est effectué par la technique de diffusion de disque sur gélose (antibiogramme) :

- À partir d'une culture pure (18-24 heures), préparer une suspension inoculum en eau physiologique (ou bouillon Mueller-Hinton) équivalente au standard Mc Farland 0,5 (~ 10^8 UFC / cm³).
- Avec un écouvillon trempé dans l'inoculum essoré,ensemencer toute la surface du milieu en stries serrées (successivement 3 orientations décalées de 60°).
- Comme dernière étape, Déposer les disques, avec un maximum de 3 pour chaque boîte de 90 mm à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince stérile, ils doivent être espacés de 24 mm, centre à centre.



Figure 08: quelques disques d'antibiotiques utilisés (photo personnelle, 2020).

⇒ A partir d'une culture pure des souches de *Staphylococcus aureus*, nous avons préparé une suspension bactérienne.

Avec un écouvillon essoré, nous avons ensemencé toute la surface de la gélose Mueller-Hinton en stries serrées et nous avons déposé avec une pince stérile les disques d'antibiotiques.

⇒ Pour les souches de *Campylobacter jejuni* et Après la préparation de milieu de culture (les milieux de culture pour antibiogramme doivent être préparés extemporanément), contenant une Gélose Mueller-Hinton + sang (5% sang de mouton).

Les boîtes sont incubées pendant 48 heures dans des jarres sous une atmosphère micro aérophi les à 37°C.

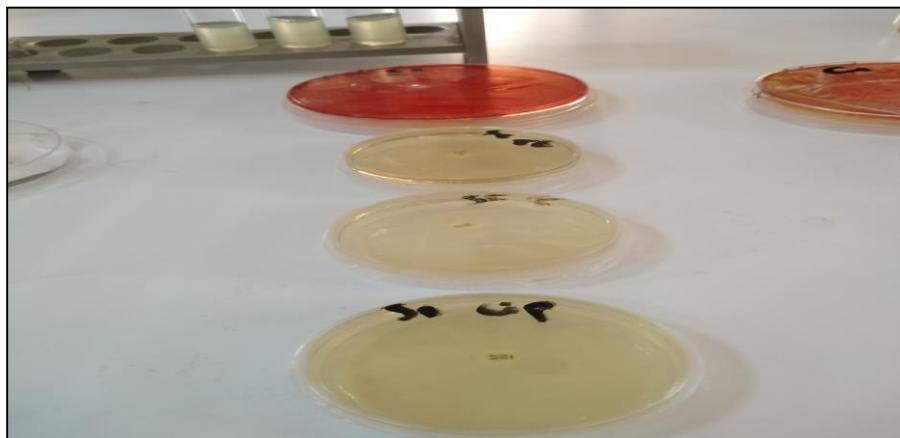


Figure 09 : dépôt des disques des antibiotiques ((photo personnelle, 2020).

IV.3 Lecture

À l'aide d'un pied à coulisse, mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition, et on les compare avec les valeurs critiques figurant dans la table de la lecture.

Les bactéries sont classées dans l'une des catégories : Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R).

Dans les deux tableaux suivant nous mentionnons les 03 antibiotiques testés et les charges correspondantes.



Figure 10 : mesure des diamètres des zones d'inhibition à l'aide de pied de coulisse (photo personnelle, 2020).

V. Résultats

La lecture des diamètres d'inhibition pour les 16 souches nous a permis de constater l'existence aussi bien de souches sensibles que résistantes aux différents antibiotiques testés.

Néanmoins, certaines souches étaient catégorisées comme intermédiaires.



Figure 11 : lecture des résultats (photo personnelle, 2020).

Staphylococcus aureus

Les 08 souches de *S. aureus* ont présenté des niveaux de résistance élevés à la tétracycline (75%) et à la ciprofloxacine (50%) et un faible niveau de résistance à l'érythromycine (12.5%).

Les taux de résistance aux antibiotiques des 8 souches de *Staphylococcus aureus* isolées chez les bovins sont présentés dans le tableau 04 et la figure 12.

Tableau 04 : taux de résistance des souches de *Staphylococcus aureus*.

Antibiotiques	Taux de résistance %
Erythromycine	12.5 % (1/8)
Ciprofloxacine	50 % (4/8/)
Tétracycline	75% (6/8)

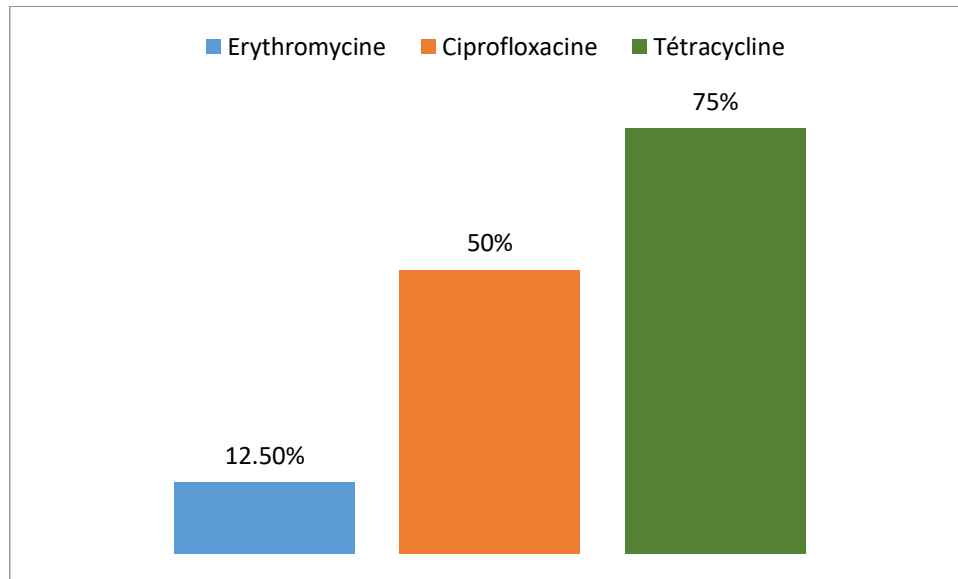


Figure 12 : taux de résistance des souches de *Staphylococcus aureus*.

Campylobacter jejuni

Les différentes souches de *C.jejuni* ont présenté des niveaux de résistance variables aux différents antibiotiques testés, qui varient de 75%, 62,5% et 37,5% à la tétracycline, le ciprofloxacin et à l'erythromycine respectivement.

Les taux de résistance aux antibiotiques des 8 souches de *Campylobacter jejuni* isolées chez les bovins sont présentés dans le tableau 05 et la figure 13.

Tableau 05 : taux de résistance des souches de *Campylobacter jejuni*

Antibiotiques	Taux de résistance%
Erythromycine	37.5% (3/8)
Ciprofloxacin	62.5% (5/8)
Tetracycline	75% (6/8)

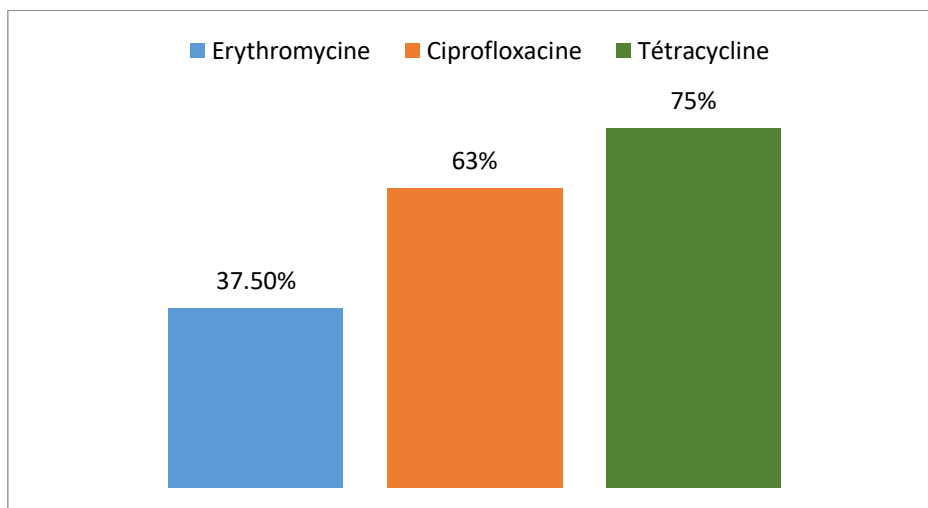


Figure 13 : taux de résistance des souches de *Campylobacter jejuni*.

Les profils de résistance obtenus par les 08 souches pour les deux bactéries sont présentés dans Les tableaux 06 et 07.

Tableau 06 : profils d'antibio-résistance des 08 souches de *S. aureus* testées.

Souches	E	TE	Cip
1	R	R	R
2	I	S	R
3	S	S	I
4	S	R	R
5	S	S	R
6	S	S	R
7	I	R	R
8	S	R	I

Tableau 07 : profils d'antibio-résistance des 08 souches de *C. jejuni* testées.

Souches	E	TE	Cip
1	R	S	R
2	I	R	R
3	S	S	I
4	R	R	R
5	S	R	R
6	S	S	R
7	I	R	R
8	R	R	I

Conclusion

Chez le bovin, *Staphylococcus aureus* provoque des mammites aiguës ainsi que d'autres infections purulentes, alors que, *Campylobacter jejuni* induisent des diarrhées et des avortements. Par ailleurs, chez l'homme ces deux agents pathogènes sont plus connus pour leur rôle dans l'apparition de la toxi-infection alimentaire, c'est pour cela que l'émergence des résistances chez ces deux espèces engendre des préoccupations et nous incite à estimer le danger affronté.

Notre étude expérimentale s'est intéressée à la mesure de la sensibilité, des souches citées plus haut, aux 3 antibiotiques : erythromycine, ciprofloxacine et la tétracycline.

Les résultats que nous avons obtenus ont montré que les souches des deux bactéries étudiées présentent un faible taux de résistance aux Erythromycine (37% et 12,5% comme taux de résistance pour les souches *Saphylococcus aureus* et les souches de *Campylobacter jejuni* respectivement).

Cependant, les données concernant la ciprofloxacine et surtout la tétracycline sont inquiétantes. En effet, on remarque que plus de 50 % des deux bactéries présentes sont résistantes à ces deux molécules antibactériennes.

Selon notre enquête du projet de fin d'étude, les antibiotiques sélectionnés pour la technique d'antibiogramme sont parmi les plus utilisés par les vétérinaires sur terrain, ce qui explique le taux élevé de résistance observé. Effectivement, les tétracyclines dominent les antibiotiques utilisés en cas des différentes pathologies rencontrées chez le bovin.

Les mesures tendant à prévenir et à maîtriser la propagation de la résistance bactérienne doivent agir sur les facteurs conditionnant son émergence et son évolution. Il s'agit en premier lieu de diminuer l'utilisation anarchique des antibiotiques et en deuxième lieu d'appliquer les mesures préventives afin de diminuer la quantité des antibiotiques consommées.

Références bibliographiques

1. Afssa, (2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Rapport du groupe de travail “Antibiorésistance”. [En ligne]. Maisons-Alfort : AFSSA, 214 pages. Disponible sur : www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-ABR.pdf.
2. Burnichon N, Texier A. L’antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques ; DES de bactériologie. 2003.
3. Carle sylvie LA RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES : UN ENJEU DE SANTÉ PUBLIQUE IMPORTANT 2009 .
4. CASFM / EUCAST : Société Française de Microbiologie Ed ; 2019 : p.19-21.
5. COUSTES trstan LOI D’AVENIR AGRICOLE, RÈGLEMENTATION DU MEDICAMENT VÉTÉRINAIRE ET LUTTE CONTRE L’ANTIBIORÉSISTANCE 2016.
6. Diène Seydina M.. Détermination de la sensibilité et de la résistance des bactéries aux agents antimicrobiens. Association des Enseignants de Microbiologie et d’Immunologie des Facultés de Pharmacie (www.aemip.fr). 2016].
7. EQUIPE PASSPORT SANTE
<https://www.passeportsante.net/fr/Maux/examensmedicauxoperations/Fiche.aspx?doc=examen-antibiogramme>.
8. ENRIQUEZ B. (2007) Les antibiotiques en médecine vétérinaire. Pharmacie et toxicologie expérimentales et cliniques : notions générales sur les antibiotiques, les antibiotiques antibactériens, les antibiotiques antifongiques. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d’Alfort, Unité pédagogique de Pharmacie et Toxicologie.
9. Euzéby J.P. : Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des antibiotiques , étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 2009.
10. Fauchère J.L et Avril J.L. 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. 15: 252-253; 10: 151-176.
11. Guerin-Fauble V, (2010).Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. In : Journées nationales GTV. Lille, 26-28 mai 2010, SNGTV, Paris.
12. Guillemot. D, (2006).Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine, page 10-214. (AFSSA Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments).

13. Jehl F, Chomar M, Tankovic J, Gérard A. 2012. De l'antibiogramme à la prescription. bioMérieux S.A.
14. Jehl F, Chabaud A, Grillon A. L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *Journal des Anti-infectieux* (2015) 17, 125—139.
15. MAITRE christophe Inra revu de presse 2018 RÉDUIRE L'USAGE DES ANTIBIOTIQUES EN ÉLEVAGE.
16. Meyer A, Deïania J, Bernard A. 2004. Résistance aux agents antimicrobiens. In *Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés*. 2ème edi, Ed DOIN. Biosciences et techniques collection dirigée par Fagarella J et Calos A.
17. Morlot cécile 2003 https://www.researchgate.net/figure/Representation-schematique-de-lenveloppe-cellulaire-des-bacteries-Gram-positives-A-et_fig1_30514640.
18. MUYLEAERT, A. & MAINIL, J. G. 2012. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét*, 156, 109 -123.
19. Pina P, Pangon B, Rio Y, Chardon H, Lallali A.K, Allouch P.Y. 2000. Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques en Unités de soins intensifs. *J Path Biol* 48: 485-489.
20. SCHWARZ S., CHASLUS-DANCLA E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet.Res.* 2001, 32, 201-225.
21. Soussy C. J ; Duval J. Comment choisir et prescrire un traitement antibiotique. In : *Abrégé d'antibiothérapie*. Masson ed. Paris.
22. Wright G.D., Bacterial resistance to antibiotics : enzymatic degradation and modification, *Adv. Drug Deliv.Rev.*, 2005,57, 1451-1470.