

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie  
Filière : Microbiologie appliquée  
Option : Microbiologie appliquée dans le Secteur biomédical et vétérinaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## MASTER

### *Thème*

*Recherche des souches d'entérobactéries  
résistantes aux antibiotiques isolées des œufs  
de consommation dans la wilaya de Bejaia*

Présenté par :

*HAMADI Fouzia & HAMIDOUCHE Thilleli*

Soutenu le : **13 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> : <i>TAFOUKT R.</i>	MAB	President
M <sup>me</sup> : <i>MOUICI K.</i>	MCB	Encadreur
M <sup>me</sup> : <i>BeLHADI K.</i>	MAA	Examineur
M <sup>r</sup> : <i>BELMAHDI M.</i>	MAA	Invité

**Année universitaire : 2014 / 2015**



## Remerciements

*Tout d'abord, nous aimerions remercier Dieu le tout-puissant, de nous avoir donné la force et la patience de pouvoir.*

*On exprime toute notre gratitude à notre encadreur M<sup>me</sup> MOUICI K. a pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et son suivi.*

*On tient à exprimer notre gratitude ainsi que mes sincères remerciements à M<sup>elle</sup> MEZHOU D H, qui est malgré les occupations et les responsabilités qu'elle assume, elle a toujours eu le temps pour nous écouter, nous conseiller et nous fournir les informations nécessaires durant notre travail. Que ce travail soit le modeste témoignage de notre haute considération et nous profond respect.*

*On adresse également nos vifs remerciements, à M<sup>r</sup> BELMAHDI M, pour ses orientations avisées, ses conseils éclairés, et surtout pour sa patience et son respect.*

*Nous remercions également M<sup>me</sup> TAFOUKI R. Pour avoir accepté de présider le jury et d'examiner notre mémoire.*

*De même pour M<sup>me</sup> BELHADI K, Pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.*

*En somme, toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire est naturellement dans notre cœur et lui témoignons notre reconnaissance.*



## Dédicace

- ★ *A la personne devant laquelle tous les mots de l'univers sont incapables d'exprimer mon amour et mon affection pour elle, à l'être qui m'est le plus cher, à ma chère mère.  
Mère, si tu savais combien je t'aime.*
- ★ *A mon cher père qui a payé de vingt deux années d'amour et de sacrifices le prix de ma façon de penser. Père, je te remercie d'avoir fait de moi une femme.*
- ★ *A mes chers sœurs Assia, Hanane, Célia et surtout à Lydia la plus chère amie que je considère comme ma sœur et plus, que dieu les protège.*
- ★ *A toute la famille HAMADI.*
- ★ *A toutes mes amies à qui je souhaite le bonheur et la réussite.*

**Fouzia**



## Dédicace

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à :*

- ❖ *A mes très chers parents que je suis très fière de les avoir, sans lesquels je n'y serais jamais parvenue et qui je ne remerciais jamais assez.*
- ❖ *A ma chère grand- mère.*
- ❖ *A mes chers sœurs: Thanina, Kenza, Ouzna*  
*et mon cher frère: Younes.*
- ❖ *A ma promotrice M<sup>me</sup> Mouici ,co-promoteur M<sup>r</sup> BELMAHDI et M<sup>lle</sup> MEZHOUD H qui m'ont guidée et éclairée à l'aide de leurs précieux conseils à eux tout le mérite revient*
- ❖ *A toute ma famille surtout mes cousines et cousins.*
- ❖ *A tous mes amis et mes enseignants.*

*Thilleli*

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

## Matériel et méthodes

I-Echantillonnage 6

II-Enrichissement 6

III-1. Isolement des souches d'*E. coli* 6

III-2. Isolement des souches d'entérobactéries résistantes aux C3G 7

III- 3. Isolement des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes 7

IV-Identification biochimique 7

V-Antibiogramme standard 8

VI -Recherche de  $\beta$ -lactamases à Spectre Elargi (BLSE) 8

1 – DD- test (Test de synergie) 8

2-DD-Test sur gélose à la cloxacilline 9

## Résultats

I-Echantillonnage et isolement 10

II-Isolement des souches d'*E. coli* 10

III-Sensibilité des souches isolées 10

III-1-Sensibilité des souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques	10
IV- Prévalence des souches d'entérobactéries résistantes aux C3G	11
IV.1. Recherche de $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) par DD-test	12
IV.2. DD-Test sur gélose à la cloxacilline	13
IV.3. Résistance aux autres familles d'antibiotiques des entérobactéries résistantes au céftiofur	14
V- Isolement des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes	14
<b>Discussion</b>	15
<b>Conclusion</b>	17

## **Références bibliographiques**

## **Annexe**

## Liste des abréviations

<b>AMC</b>	Amoxiciline+Acide Clavulanique.
<b>AMP</b>	Ampicilline.
<b>AK</b>	Amikacine.
<b>BLSE</b>	$\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu.
<b>C3G</b>	Céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération.
<b>C4G</b>	Céphalosporines de 4 <sup>ème</sup> génération.
<b>CLSI</b>	Clinical and Laboratory Standards Institute.
<b>CTX</b>	Céfotaxime.
<b>ENR</b>	Enrofloxacin.
<b>ETP</b>	Ertapénème.
<b>GN</b>	Gentamicine.
<b>h</b>	heure.
<b>I</b>	Intermédiaire.
<b>R</b>	Résistant.
<b>S</b>	Sensible.
<b>TE</b>	Tétracycline.
<b>UB</b>	Fluméquine.
<b>UFC</b>	Unité formant colonie.

## Liste des figures

<b>Figure N°01</b> : Sensibilité des souches d' <i>E.coli</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	11
<b>Figure N° 02</b> : Résultat d' un DD-Test positif	12

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°I</b> : Informations notées lors des prélèvements	6
<b>Tableau N°II</b> : résultat de la galerie biochimique	10
<b>Tableau N°II</b> : Tableau récapitulatif des profils de résistance des souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur	12
<b>Tableau N°III</b> : Tableau comparatif des diamètres des zones d'inhibition sans et avec cloxacilline	13
<b>Tableau N° IV</b> : Tableau récapitulatif des profils de résistance aux autres familles d'antibiotiques des souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur	14



# Introduction

La filière avicole en Algérie est l'une des activités les plus importantes en ce qu'elle représente comme apport protéique et également source de revenu de beaucoup de familles (**Zoubara, 2011**).

En raison de la croissance démographique, une augmentation de la consommation des produits avicoles est fortement remarquée avec une diversité de producteurs, la filière « ponte » arrive à couvrir la demande de la population algérienne en œufs. Après une longue période d'importations des œufs de consommation (3 milliards d'unités en 1980), l'Algérie a produit 3,8 milliards d'œufs en 2007. Ce sont 16 380 000 poules pondeuses réparties en effectifs variant de 2400 à 15 000 sujets et bénéficiant de conditions spécifiques et d'un apport conséquent en aliment, eau et en prophylaxie sanitaire et médicale qui ont réalisé cet exploit (**Meziane, 2011**).

Les œufs de poule est l'un des aliments les plus polyvalents, contenant des protéines et des lipides ; en outre, l'œuf est largement utilisé comme ingrédient dans l'industrie alimentaire. Environ 30% de la consommation totale d'œufs est sous la forme de produits transformés (**García et al., 2015**).

Les œufs ont une grande valeur nutritive, le blanc comme le jaune sont riches en protéines de haute valeur (plus de 10 % de leur poids) (**Van Eekeren et al., 2006**) , ils fournissent des protéines complètes de haute qualité contenant tous les acides aminés essentiels nécessaires à la santé humaine, ainsi que des quantités importantes de diverses vitamines et minéraux (**Yang et al., 2015**).

Depuis les années 50, l'usage vétérinaire des antibiotiques s'est répandu parallèlement à l'antibiothérapie humaine. L'utilisation vétérinaire des antibiotiques dans les élevages est de trois ordres, thérapeutiques, prophylactiques et zootechniques (**Tatsadjieu Ngoune et al., 2009**).

Les antibiotiques utilisés comme promoteurs de croissance administrés à des faibles doses dans l'alimentation animale, ont un effet préventif sur certaines infections bactériennes (**Sanders, 2005**). Ils augmenteraient la disponibilité des nutriments et de l'énergie pour l'animal par la réduction de production de molécules toxiques, comme l'ammoniaque entraînant en retour une diminution du taux de renouvellement de

l'épithélium intestinal (c'est à dire, une diminution de l'épaisseur de la paroi intestinale), ce qui favoriserait une meilleure absorption (**Perrin-Guyomard et al., 2001**).

Les antibiotiques qui peuvent être utilisés à titre thérapeutique curatif ont un objectif majeur qui est celui d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. Le traitement a aussi pour effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (**Chauvin et al., 2006**).

Lorsqu'une infection collective très contagieuse se déclare dans un élevage, l'ensemble du groupe d'animaux est traité. Les sujets qui sont exposés mais ne présentent pas encore de signes cliniques (sains ou en incubation) font donc l'objet d'un traitement en même temps que ceux qui sont déjà malades. Cette pratique est qualifiée de métaphylaxie. Elle permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes (**Chauvin et al., 2006**).

L'évolution de l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire à considérablement amélioré l'état sanitaire des animaux (**Perugini et al., 2005**). Mais cela crée une pression de sélection favorable au développement des bactéries résistantes (**Sanders et al., 2011**). Ce problème de résistance bactérienne aux antibiotiques est devenu un sujet de préoccupation croissant pour le grand public et a fait l'objet d'un intérêt scientifique accru. (**Moritz , 2001**).

La relation entre l'utilisation des antibiotiques et le développement de la résistance est un phénomène complexe (**Sanders, 2005**).des données expérimentales, épidémiologiques et moléculaires indiquent cependant un rapport entre l'utilisation des antibiotiques et l'émergence de souches bactériennes résistantes chez les animaux, puis leur propagation à l'homme, notamment par la chaîne alimentaire (**Moritz, 2001**). Cette émergence de la résistance chez les bactéries pathogènes pour l'homme et l'animal est le résultat de plus de 50 ans d'usage de ces antibiotiques avec une mauvaise compréhension de l'impact écologique de leur usage sur la microflore bactérienne (**Sanders, 2005**).

L'usage d'un antibiotique dans un élevage sur un lot d'animaux est effectivement un facteur de risque de sélectionner une souche résistante au même antibiotique. Cet usage est aussi un facteur de risque sélectionner des souches résistantes à d'autres familles d'antibiotiques. Ce phénomène est associé au fait qu'une souche bactérienne peut porter

des gènes de résistance à différentes familles d'antibiotiques (multi-résistance). L'usage d'un antibiotique co-sélectionnerait la résistance aux autres familles d'antibiotiques, contribuant ainsi à enrichir progressivement la population bactérienne de souches multi-résistantes. Quel que soit l'antibiotique utilisé, il contribue globalement à la sélection de souches résistantes (**Sanders et al., 2011**).

Le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques augmente régulièrement, et constitue un véritable problème de santé publique pour lequel la communauté scientifique et médicale internationale se mobilise. L'émergence des bactéries résistantes peut causer des maladies qui ne se laissent plus traiter par une antibiothérapie (**Faure, 2010**). Le développement rapide de la résistance aux céphalosporines a été observé chez les entérobactéries dans le monde entier, cette résistance est principalement basée sur la production d'enzymes dites des «  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) » (**Dierikx et al., 2010**).

La microflore intestinale des animaux peut constituer un réservoir de bactéries antibiorésistantes capables d'infecter ou de coloniser les hommes par la chaîne alimentaire. Ces souches sont fréquemment présentes chez les animaux destinés à la consommation humaine, y compris chez les volailles (**Moritz, 2001**), et l'élimination avec les matières fécales de quantité importante de bactéries résistantes peut également favoriser cette dissémination dans l'environnement (**Levy et al., 1990**).

Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes qui hydrolysent l'ensemble des pénicillines et les céphalosporines à l'exception des céphamycines (céfoxitine, céfotétane) du moxalactame et des carbapénèmes. Les premières BLSE dérivent des pénicillinases de type TEM ou SHV-1 par mutation ponctuelle. De nouvelles BLSE non dérivées des pénicillinases ont émergé : les céfotaximases de type CTX-M et les ceftazidimases de type PER, GES et VEB (**Doit et al., 2010**). Les taux d'incidence des entérobactéries productrices de BLSE de manière générale ont beaucoup augmenté depuis le début des années 2000 (**Haut conseil de la santé publique, 2010**). Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu continuent d'être un problème mondial et sont de plus en plus souvent rencontrées, notamment en ville. En 2002, En France par exemple, moins de 1% des souches d'*Escherichia coli* avaient une BLSE. En 2006, elles représentent 1 à 5 % des souches. Le même phénomène est observé avec *Klebsiella pneumoniae* (**Carole, 2008**). *E.coli* est devenue progressivement depuis le début des années 2000 l'espèce bactérienne

la plus concernée par l'émergence de nouvelles  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) : les CTX-M. enzymes inactivant la plupart des  $\beta$ -lactamines (**Haut conseil de la santé publique, 2010**).

Des études ont montré que la coquille est plus fréquemment contaminée que le jaune ou le blanc d'œuf, les produits à base d'œuf sont moins souvent contaminés, grâce aux traitements thermiques que ces produits subissent. Il est évident que les contaminations des œufs sont fortement influencées respectivement par les conditions hygiéniques et par la réfrigération des œufs (**Van Immerseel et al., 2005**).

En ce qui concerne la contamination de surface, les coquilles d'œufs sont difficiles à échantillonner pour une estimation précise de la charge microbienne. Ceci est la raison pour laquelle plusieurs méthodes pour la récupération des micro-organismes ont été proposées. La population bactérienne aérobie totale sur la coquille des œufs non transformés pourrait être estimée à environ  $\log 10^4$ - $10^5$  UFC/œuf, avec entérobactéries représentant les niveaux de  $\log 10^{1,06}$  à  $10^{2,09}$  UFC/œuf (**De la Hoz et al., 2009**).

Les micro-organismes peuvent contaminer les œufs à différents stades, de la production à la transformation à la préparation et la consommation (**De Reu et al., 2006**). La contamination des œufs au stade de production peut s'effectuer par deux voies soit horizontale à travers la coquille de l'œuf a pour origine la contamination fécale, elle comprend aussi la contamination par les vecteurs ambiants (**Castagnos, 2003**). Même s'il est difficile pour les bactéries de se déplacer dans une coquille d'œuf intact de bonne qualité, les rapports antérieurs indiquent que les petits défauts de la coquille d'œuf peuvent fournir des moyens pour les espèces bactériennes prédominantes sur la coquille d'œuf pour pénétrer la coquille et se déplacer dans le contenu des œufs (**De Reu et al., 2006**). La deuxième voie est la voie verticale s'effectue suite à l'infection du système de reproduction de la poule pondeuse ; il est également possible que cette contamination ait lieu directement dans le jaune d'œuf, le blanc d'œuf, la membrane interne de la coquille ou la coquille même avant la ponte de l'œuf (**Van Immerseel et al., 2005**). Cette dernière est considérée comme la voie principale de contamination par *Salmonella* elle est plus difficile à maîtriser, tandis que la transmission horizontale peut être réduite de manière efficace par le nettoyage et la désinfection de l'environnement (**Castagnos, 2003**).

En Algérie, le suivi de l'évolution de la résistance aux antibiotiques chez les animaux n'est pas pris en charge par un organisme officiel. Actuellement, quelques études sont publiées sur ce sujet, des études de Hammoudi et Aggad, (2008) et Aggad et *al.* (2010) sur l'antibiorésistance des *E. coli* pathogènes dans la région de l'ouest d'Algérie. D'autres équipes de recherches travaillent au niveau des universités d'Oran, de Mentouri de Constantine, de l'Institut National Agronomique (INA) et de l'école vétérinaire de Blida sur l'antibiorésistance des bactéries commensales (Behira, 2012).

Actuellement, il existe aucune publication nationale sur la recherche des souches productrices de BLSE dans les œufs de consommation, et certaines publications internationales existent sur ce sujet parmi elles celle d'Egea et *al.*, (2011) .Il est donc indispensable de disposer des données sur cette résistance .C'est dans cette optique que nous proposons la recherche de souches d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques isolées dans les œufs de consommation dans la wilaya de Bejaia.

Pour cela, nous avons adopté une méthodologie durant laquelle des échantillons sont collectés au niveau de cinq régions différentes de la wilaya de Bejaia. Une étape d'isolement et d'identification des souches d'entérobactéries suivie d'une étude de leur sensibilité vis-à-vis cinq familles d'antibiotiques est réalisée.

# Matériel et méthodes

## I. Echantillonnage et isolement

Notre étude est effectuée au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'université de BEJAIA. Durant la période allant du mois de Mars jusqu'au mois d'avril 2015, des œufs de consommation de cinq régions différentes de la wilaya de Bejaia sont collectés. Les informations concernant chaque échantillon collecté sont représentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau N°I :** Les informations notées lors des prélèvements.

N °du prélèvement	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
Date de prélèvement	24/03/2015	29/03/2015	12/04/2015	13/04/2015	19/04/2015	21/04/2015
Lieu d'échantillonnage	Bejaia (supermarché)	Akbou (supermarché)	Sidi –Aich (supermarché)	Beni-Maouche (supermarché)	El-Kseur (supermarché)	Bejaia (marché ouvert)
Nombre d'œufs	30	30	30	30	30	30

Pour l'isolement des bactéries à partir de la coquille des œufs, nous avons utilisé la technique de **Musgrove et al., (2006a, b)** légèrement modifiée. Le contenu de chaque œuf est débarrassé après cassage de la coquille par un outil stérile de laboratoire. Ensuite la surface interne de chaque coquille est lavée par l'eau physiologique stérile afin de se débarrasser de l'albumen, connu pour son activité antimicrobienne. Par la suite, la coquille est écrasée entre les doigts et est transférée dans un tube Falcon de 50 mL.

## II. Enrichissement

Pour chaque tube Falcon, contenant la coquille broyée, environ 20mL de bouillon nutritif est ajouté. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pour une nuit.

### III. 1. Isolement des souches d'*E. coli*

Après enrichissement, un milieu sélectif de bactéries à Gram négatif (Mac Conkey ou EMB selon la disponibilité), sans addition d'antibiotique, est ensemencé à partir de la culture bactérienne. Les boîtes sont ainsi incubées à 37°C/18 à 24h. Ensuite, de chaque prélèvement, une colonie présomptive d'être *E. coli* (colonie sèche et lactose positive) est prise pour de plus amples tests.



### III. 2. Isolement des souches d'entérobactéries résistantes aux C3G

A partir des bouillons des cultures positives, un milieu sélectif de bactéries à Gram négatif (Mac Conkey ou EMB selon la disponibilité), additionné de 1µg/mL de céfotaxime, est ensemencé par 100µL de la culture bactérienne. Les boîtes sont ainsi incubées à 37°C /18 à 24h. Ensuite, de chaque prélèvement, une seule colonie présomptive d'être une entérobactérie est prise pour de plus amples tests.

### III. 3. Isolement des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes

A partir des bouillons des cultures positives, un autre enrichissement sur bouillon nutritif additionné d'un demi-disque d'ertapénème (Oxoid®, 10µg) afin d'avoir une concentration de 0,5µg/mL à été réalisé (Nordmann et al., 2012). Ensuite, un milieu sélectif de bactéries à Gram négatif (Mac Conkey ou EMB selon la disponibilité) est ensemencé par 100µL de la culture bactérienne. Les boîtes sont ainsi incubées à 37°C/18 à 24h. Ensuite, de chaque prélèvement, une seule colonie présomptive d'être une entérobactérie est prise pour de plus amples tests.

## IV. Identification biochimique

Après isolement et purification des souches, une galerie biochimique classique est utilisée (selon Le Minor et Richard (1993)). Cette galerie a consisté en :

- Utilisation du glucose, du lactose, la production de gaz et d'H<sub>2</sub>S sur gélose TSI.
- Recherche de la nitrate-réductase sur bouillon nitraté.
- Recherche d'uréase, production d'indole, et d'une TDA sur milieu urée-indole.
- Etude du type fermentaire (réaction de Voges-Proskauer et Rouge de Méthyle) sur milieu Clark et Lubs.
- Utilisation du citrate sur milieu citrate de Simmons.

(La composition de ces milieux est donnée en Annexe N°I).

## V. Antibiogramme standard

Toutes les souches d'entérobactéries obtenues à partir des trois types d'isolement ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques par antibiogramme standard. L'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton est réalisé selon les recommandations de CLSI vétérinaire (2013).

\* **Milieu**

Gélose Mueller Hinton d'une épaisseur de 4 mm (20 mL) est utilisée.

\* **Inoculum**

A partir d'une culture pure de 18-24h sur milieu d'isolement, des colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse, puis déchargées dans 5 mL d'eau physiologique stérile à 0,9% et bien homogénéisée afin d'obtenir une opacité équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625nm ( $10^8$  UFC/mL).

\* **Ensemencement**

Un écouvillon stéril est imbibé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de décharger le maximum. Ensuite, l'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et passant sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

\* **Application des disques d'antibiotiques**

Chaque disque d'antibiotique (Oxoide®) est déposé à l'aide d'une pince afin de s'assurer de son application. La liste des antibiotiques testés est donnée en Annexe III.

Après incubation à 37°C pour 18h, les diamètres des zones d'inhibition sont interprétés en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R). Il est à noter que les diamètres des zones d'inhibition sont interprétés selon les critères définis par CLSI vétérinaire (2013), à l'exception de céfépime et l'ertapénème pour lesquels le CLSI (2010) est utilisé vu qu'ils sont des antibiotiques à usage non vétérinaire.

## VI. Recherche de $\beta$ -lactamases à Spectre Elargi (BLSE)

### VI.1. DD- test (Test de synergie)

La production d'une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi a été détectée par l'épreuve de synergie qui consiste à placer des disques de céphalosporine de troisième génération (céftiofur) et de quatrième génération (céfépime) (30  $\mu$ g chacun) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline/clavulanate) (20/10  $\mu$ g). L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'augmentin et les disques de céphalosporines indique la production d'une BLSE (**Jarlier *et al.*, 1988 modifié**).

### VI.2. DD-Test sur gélose à la cloxacilline

La présence d'une BLSE peut être masquée par la production d'une céphalosporinase, induite par le clavulanate chez les souches productrices de cette enzyme tel qu'il est le cas pour *Enterobacter cloacae*. Afin d'inhiber l'activité céphalosporinase, le test de synergie est refait sur gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline (250  $\mu$ g/mL). La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE ou l'hyperproduction de céphalosporinase (**Giraud-morin et Fosse, 2008**).

# Résultats

## I. Echantillonnage

Au total, 180 œufs de consommation sont collectés de six marchés ou supermarchés, de 5 différentes régions de la wilaya de Bejaia. Le prélèvement a concerné uniquement la coquille des œufs et est effectué par la technique d'écrasement. La répartition des marchés collectés de la wilaya de Bejaia et le nombre de prélèvements par marché sont présentés dans le tableau dessous :

## II. Isolement des souches d'*E. coli*

Pour chaque prélèvement, une colonie présomptive d'être *E. coli* sur milieu sélectif est isolée et purifiée. Une souche présente les résultats ci-dessous est considérée une souche d'*E. coli*. Les résultats d'identification des souches d'*E. coli* sont présentés en Annexes N° IV.

**Tableau N°II** : résultat de la galerie biochimique

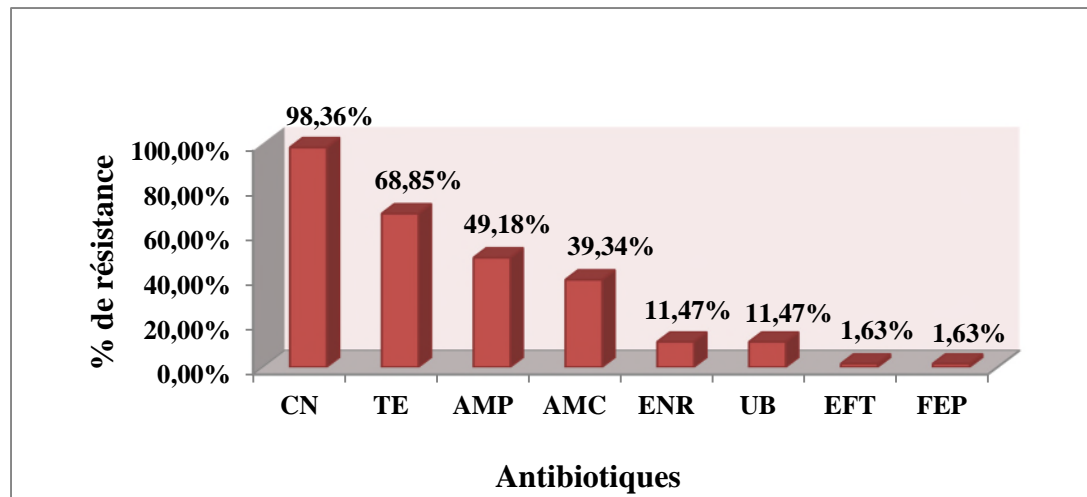
Test	Glucose	Lactose	CO2	H2S	Idole 44°C	Uréase	Nitrate réductase
Résultat	+	+	+	-	+	-	+

Sur le nombre total des œufs de consommation collecté au cours de cette étude, 61 souches d'*E. coli* sont isolées. Le taux d'isolement d'*E. coli* à partir des œufs de consommation est de 34% (61/180).

## III. Sensibilité des souches isolées

### III.1. Sensibilité des souches d'*E. coli* aux antibiotiques

Sur le nombre total de souches d'*E. coli* isolées, l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton, réalisé en testant 8 antibiotiques, a révélé que les taux de résistance aux antibiotiques varient entre 1.63 et 98.36%. La prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* est présentée par la figure ci-dessous.



AMP : Ampicilline, CN : Gentamycine, ENR : Enrofloxacin, UB : Fluméquine, TE : Tétracycline, FEP : Céftiofur, EFT : Céfépime.

Figure N°01 : Sensibilité des souches d'*E.coli* vis-à-vis des antibiotiques testés

D'après la figure N°1, nous constatons que les taux de résistance les plus importants, chez les souches d'*E. coli* rapportées des œufs de consommation au cours de la présente investigation, sont observés pour la gentamycine (CN) et la tétracycline (TE) avec des taux de résistance de 98.36% et 68.85%, respectivement. Des taux de résistance de 49.18% et de 39.34% sont observés pour l'ampicilline (AMP) et l'amoxicilline-clavulanate (AMC), respectivement. Cependant, des taux de résistance faibles sont observés vis-à-vis les céphalosporines (EFT et FEP). La résistance aux quinolones (UB) et fluoroquinolones (ENR) est également observée parmi ces souches d'*E. coli* avec un taux de 11.47%.

#### IV. Prévalence de souches d'entérobactéries résistantes aux C3G

Sur le nombre total des œufs testés, seulement 6 œufs étaient positifs pour la présence des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (céftiofur) dont deux souches étaient obtenues par isolement sur milieu de sélection des bactéries à Gram négatif additionnée de 1µg/mL de céfotaxime. Il est à noter que d'autres souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur sont obtenues sur gélose non additionnée d'antibiotique et celle de l'isolement des souches résistantes à l'ertapénème. La prévalence totale de la résistance au céftiofur parmi les souches d'entérobactéries, dans les œufs de consommation, est donc de 3.3% (6/180).

Les résultats d'identification ont révélé : deux souches d'*E. coli* et quatre souches d'*E. cloacae*.

### VI.1. Recherche de $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) par DD-test

La recherche de BLSE parmi les souches d'entérobactéries résistantes aux céftiofur a révélé que deux souches sont productrices de BLSE (présence d'image de synergie). La figure N° 2 illustre un DD-test positif chez les souches d'*E. coli* P1C10 et P2 C30E .

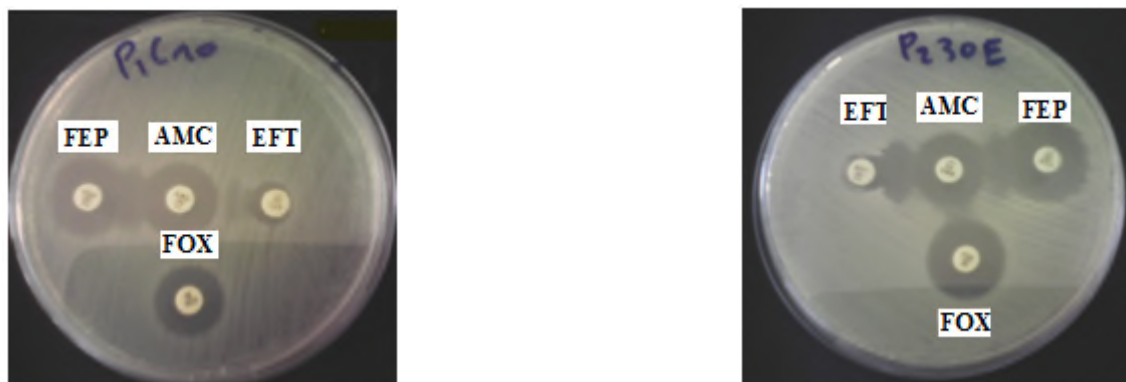


Figure N° 02: Résultats d'un DD-test positif.

Les résultats du DD-test ainsi que les profils de résistance aux  $\beta$ -lactamines, des souches résistantes au céftiofur, sont montrés par le tableau N° III.

**Tableau N° III:** Tableau récapitulatif des profils de résistance aux  $\beta$ -lactamines des souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur.

Code	Identification	AMP	AMC	EFT	FEP	BLSE	ETP
P1 C10	<i>E. coli</i>	R	R	R	I	+	/
P1 C13 E	<i>E. cloacae</i>	R	R	R	R	-	/
P1 C8 X	<i>E. cloacae</i>	R	R	R	S	-	S
P2 C20 E	<i>E. cloacae</i>	R	R	R	S	-	S
P2 C30E	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	+	S
P2 C9 X	<i>E. cloacae</i>	R	R	R	S	-	S

AMP : Ampicilline , AMC : amoxicilline/clavulanate FEP : Céftiofur, EFT : Céfépime ,ETR :Ertapénème

Il est à noter que 2/6 des souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur sont résistantes aux céphalosporines de quatrième génération (céfépime) mais aucune souche n'est résistante au carbapénème (ertapénème).

## VI.2. DD-Test sur gélose à la cloxacilline

Les souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur et/ou au céfépime et n'ayant pas présenté une synergie avec le DD-test sont testés sur gélose additionnée de cloxacilline à 250µg/mL. Les souches ayant présenté une récupération des diamètres des zones d'inhibition d'au moins 6 mm sont considérés des souches hyper productrices de céphalosporinases. Le résumé de DD-test sur gélose à la cloxacilline est représenté par le tableau IV.

**Tableau N°IV :** Tableau comparatif des diamètres des zones d'inhibition sans et avec cloxacilline

Code	Sans cloxacilline								Avec cloxacilline							
	AMC		FEP		EFT		FOX		AMC		FEP		EFT		FOX	
P1 C8X	8	R	23	I	10	R	0	R	9	R	29	S	11	R	0	R
P2C20E	0	R	30	S	14	R	0	R	0	R	30	S	14	R	0	R
P2 C9X	9	R	25	S	<u>11</u>	R	0	R	9	R	28	S	<u>18</u>	R	0	R

AMC : amoxicilline/clavulanate FEP : Céftiofur, EFT : Céfépime , FOX : céfoxitine

D'après les résultats du test à la cloxacilline, seule la souche d'*E. cloacae* (P2 C9X) qui a présenté une récupération de 6 mm dans le diamètre de la zone d'inhibition pour le céftiofur et avec absence de production de BLSE (absence de synergie). Cette souche (P2 C9X) est donc hyper productrice d'une céphalosporinase (case) chromosomique. Les deux autres souches n'ont pas présenté une récupération dans les zones des diamètres d'inhibition. L'hyper production d'une case plasmidique aurait pu être confirmée en augmentant la concentration de la cloxacilline à 500µg/mL.

## VI.3. Résistance aux autres familles d'antibiotiques des entérobactéries résistantes au céftiofur

Les souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur ont également présenté une résistance aux autres familles d'antibiotiques telles que les quinolones, aminosides et tétracycline. Le tableau dessous résume le profil de résistance des souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques.



**Tableau N° V:** Tableau récapitulatif des profils de résistance aux autres familles d'antibiotiques des souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur .

Code	Identification	ENR	UB	CN	AK	TE
P1 C10*	<i>E. coli</i>	R	R	R	/	R
P1 C13 E*	<i>E. cloacae</i>	R	R	R	S	R
P1 C8 X*	<i>E. cloacae</i>	I	I	R	S	R
P2 C20 E	<i>E. cloacae</i>	S	S	R	S	S
P2 C30E*	<i>E. coli</i>	I	S	R	S	R
P2 C9 X	<i>E. cloacae</i>	S	S	R	S	S

\*une bactérie multi résistantes (BMR), **ENR** : Enrofloxacin, **UB** : Fluméquine, **CN** : Gentamycine, **AK** : Amikacine ,  
**TE** : Tétracycline

D'après le tableau ci-dessus, on remarque que toutes les souches d'entérobactéries résistantes au céftiofur sont également résistantes à la gentamycine. Il est aussi à signaler que 4 souches d'entérobactéries sont des bactéries multi résistantes (résistance à plus de deux familles d'antibiotiques).

## V. Isolement de souches d'entérobactéries résistantes à l'ertapénème

Au cours de la présente investigation, sur le nombre total des œufs dépistés, aucune souche d'entérobactérie n'est résistante à l'ertapénème.

# Discussion

Depuis leur découverte dans les années 1940s, les antibiotiques sont largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Cependant, plusieurs pathogènes humains et animaux ont développé une résistance à ces molécules (**Costa and al., 2011**). Les bactéries résistantes aux antibiotiques sont souvent isolées à partir des denrées alimentaires y compris la viande du poulet de chair et les œufs de consommation à travers le monde. Néanmoins, peu d'attention est donnée à la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées des œufs de consommation en Algérie où les conditions d'hygiène sont peu ou pas respectées.

Durant la présente étude, 180 œufs de consommation sont inclus dans l'étude de la résistance aux antibiotiques et la recherche des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi ou résistantes aux carbapénèmes. Il est évident que les œufs sont naturellement contaminés soit au moment de la ponte par la flore fécale soit ultérieurement par le nid et les plumes ou au cours de leur transport.

Le genre *Escherichia* est l'entérobactérie le plus isolé des œufs de consommation (**Stępień-Pyśniak, 2010 ; Gole et al., 2013**). *E. coli* est considérée comme le meilleur indicateur de l'évolution de la résistance aux antibiotiques dans un écosystème donné (**van den Bogaard and Stobberingh, 2000**). Elle est naturellement sensible à tous les antibiotiques et se caractérise par son aptitude à acquérir des mécanismes de résistance à des antibiotiques habituellement actifs, pouvant parfois apparaître en cours d'antibiothérapie (**Lavigne et al., 2002**).

Au cours de cette étude, les souches d'*E. coli* isolées, ont présenté les taux de résistance les plus élevés vis-à-vis de la gentamycine et la tétracycline suivi par la résistance à l'ampicilline et amoxicilline/clavulanate. De très faible taux de résistance aux quinolones est également observée, mais les antibiotiques vis-à-vis desquels les souches d'*E. coli* restent plus ou moins sensibles sont les céphalosporines et les carbapénèmes.

Ces résultats corroborent majoritairement plusieurs travaux antérieurs et qui ont rapporté que la résistance aux pénicillines et tétracycline est commune chez le poulet de chair (**Miranda et al., 2008; Jasson et al., 2009; Persoons et al., 2010**) et la poule pondeuse (**Oosterik et al., 2014**). En plus, **Musgrove et al., (2006)** rapportent les taux de résistance les plus élevés vis-à-vis de la tétracycline (29.9%) et la gentamicine (3.1%), chez les souches d'*E. coli* isolées de la coquille des œufs de consommation. **Belmahdi (2010)** a rapporté également des taux de résistance élevés à la tétracycline et l'ampicilline

(81% et 68%, respectivement), mais un taux de résistance très faible à la gentamicine (0.81%) chez les souches d'*E. coli* isolées du poulet de chair dans la wilaya de Bejaia.

La raison de cette résistance élevée pourrait être expliquée par une utilisation non rationnelle des antibiotiques en élevage des poules pondeuses. Les antibiotiques sont normalement rarement utilisés chez la poule pondeuse pour deux raisons : d'une part les infections surviennent rarement comparé au poulet de chair et d'autre part vue le risque de transmission des résidus d'antibiotiques vers le consommateur via l'œuf. Cependant, au cours de leur élevage (avant la maturité sexuelle), les poules peuvent recevoir des antibiotiques et par conséquent la résistance pourrait se développer et persister dans leur tube digestif (**Oosterik et al., 2014**).

Malgré le taux de sensibilité élevé qui a été noté aux céphalosporines, chez les souches d'*E. coli*, un nombre restreint de souches d'entérobactéries (6) ont présenté une résistance au céftiofur. Parmi elles, deux souches d'*E. coli* sont productrices de BLSE selon le résultat du test de synergie (DD-test). L'hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique pourrait aussi être à l'origine de la résistance au céftiofur chez les souches d'*E. cloacae*.

Notre étude à rapporter des souches productrices de BLSE dans les œufs de consommation. Par contre, Egea et al., (2011) ne rapportent, dans leur étude, aucune souche productrice de BLSE à partir de la coquille des œufs de consommation. Les BLSE sont des  $\beta$ -lactamases plasmidiques capables d'hydrolyser non seulement les pénicillines mais également les céphalosporines de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> (à l'exception des céphamicines), 3<sup>ème</sup> et de 4<sup>ème</sup> génération ainsi que les monobactames (aztréonam) d'où leur nom à large spectre. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique, sulbactame, ou le tazobactame (**Roberts et al., 2009**).

Les entérobactéries productrices de BLSE étaient, au début, associées aux infections nosocomiales. Toutefois, elles sont actuellement de plus en plus rapportées en communauté (**Livermore et al., 2007**) et les animaux producteurs de denrées alimentaires (**Smet et al., 2008**). En revanche, la résistance à l'ertapénème (carbapénème) n'est pas révélé parmi les œufs de consommation au cours de la présente étude. Une résistance à ces molécules d'antibiotiques est rapportée en Algérie en médecine humaine (**Bakour et al., 2014**).

# Conclusion

Durant notre travail, nous avons isolé 61 souches d'*E. coli* à partir de 180 œufs de consommation. Ces souches ont présenté des taux de résistance aux antibiotiques qui varient entre 1.63% et 98.36%. Les taux de résistances les plus élevées sont observés pour la gentamycine (98,36%), tétracycline (68,85%), ampicilline (49,18%) et en fin amoxicilline-clavulanate (39.34%).

Six souches d'entérobactéries étaient résistantes aux céphalosporines de troisième génération (céftiofur) avec une prévalence d'isolement de 3.3% (6/180) dans les œufs de consommation. Parmi elles, deux *E. coli* sont productrices de BLSE et 4 souches sont des bactéries multi résistantes (résistance à plus de deux familles d'antibiotiques).

Aucune souche d'entérobactérie n'est résistante à l'ertapénème dans les œufs de consommation, collectés au niveau de cinq régions différentes de la wilaya de Bejaia.

Les œufs porteurs de bactéries résistantes aux antibiotiques constituent une menace pour la santé publique, sachant qu'en Algérie, les œufs ne subissent aucune désinfection ou lavage avant leur vente.

Les résultats obtenus restent préliminaires car cette étude est limitée dans le temps et dans l'espace. Elle doit être complétée par d'autres expertises à savoir :

- ✓ L'étude de la transmission de la résistance bactérienne de la poule pondeuse vers l'œuf.
- ✓ Etude les profils de résistance aux antibiotiques pour d'autres bactéries autres que les entérobactéries.
- ✓ Etude l'environnement des fermes et des marchés pour cribler la présence des souches résistantes.
- ✓ Effectuer l'échantillonnage à différents stade d'élevage de transport.
- ✓ Il serait également intéressant pour une recherche ultérieure d'élargir l'étude dans le temps et dans l'espace.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

### A

**Aggad H, Ahmed Ammar Y, Hammoudi A et kihal M. (2010).** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens with colibacillosis .global veterinaria **4(3):303-306.**

### B

**Bakour S. (2015).** Caractérisation des mécanismes de résistance aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter baumannii*. Thèse de Doctorat de Microbiologie Appliquée. Faculté de Science de la Nature et de la Vie, **69p**

**Behira B. (2012).** contribution à l'étude des espèces de lactobacilles à caractère probiotiques isolées de la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*) de l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat de Microbiologie alimentaire. Université d'Oran, Faculté des Sciences, **26p.**

**Belmahdi M. (2010).** Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées de la volaille. Thèse de Magister de Microbiologie Appliquée. Faculté de Science de la Nature et de la Vie, **67p.**

### C

**Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2013).**

**Costa P, Oliveira M, Ramos B and Bernardo F. (2011).** The impact of antimicrobial use in broiler chickens on growth performance and on the occurrence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli*. Livestock Science. **136**, 262-269

**Carole E. (2008).** Modalité de détection des BLSE chez les Entérobactéries. Pratique bactériologique. **18p.**

**Castagnos S. (2003).** Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie contre les salmonelles sur des poulets labels du sud-ouest .Thèse de doctorat En Sciences vétérinaire. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse. **24p**

**Chauvin C, Colin P, Guillot JF, Laval A, Millemann Y, Moulin G, Pellanne I. (2006).** Usage des antibiotiques chez l'animal. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, **214p.**

### D

**De la Hoz L, Fernández M, Hierro E, Manzano S, Ordóñez JA. (2009).** L'inactivation de *Salmonella enterica* sérotype Enteritidis sur les œufs en coquille par la technologie de lumière pulsée. Journal international de microbiologie alimentaire. **135**, Issue 2 :125-130

**De Reu K , Grijspeerdt K , Messens W , Heyndrickx M , Uyttendaele M, Debevere J , Herman L .(2006).** Facteurs influençant la pénétration de la coquille et la contamination de l'œuf entier par des bactéries différentes, y compris *Salmonella Enteritidis*. International Journal of Food Microbiology. **112** issue 3: 253-260.



**Dierikx C, Essan-Zandbergen AV, Veldman K, Smith H, Mevius D. (2010).** Increased detection of extended spectrum  $\beta$ -lactamases producing *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolates from poultry. *Veterinary Microbiology*. **145**,273-278.

**Doit C, Mariani-Kurkdjian P, Bingen E. (2010).** Entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu. *Archives de Pédiatrie*. **17**,133-144.

### E

**Egea P,opez-Cerero L,Navarro MD,Rodr guez-Bano J,Pascual A.(2011).** Assessment of the presence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing in egg shells and ready-to-eat products. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. **30** Suppl 9: 1045-1047.

### F

**Faure S. (2010).** Transfert d'un gène de résistance aux  $\beta$ -lactamines *bla*<sub>CTX-M-9</sub> entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie. Thèse de Doctorat de Biologie et Santé. Université de Rennes 1, Faculté des Science de la vie et de l'environnement, Rennes, **192p**.

### G

**García V, Laca A, Martínez L A, Paredes B, Rendueles M, Díaz M. (2015).** Développement et caractérisation d'une nouvelle formulation de dessert à base d'œufs douce. *International Journal of Food Science and Gastronomy*. **2** issu 2: 72-82.

**Giraud-Morin C, Fosse T. (2008).** Evolution récente et caractérisation des entérobactéries productrices de BLSE au CHU de Nice (2005-2007). *Pathologie Biologie*. **56**, 417-423.

**Gole VC, Chousalkar KK, Roberts JR. (2013).** Survey of Enterobacteriaceae contamination of table eggs collected from layer flocks in Australia. *International Journal of Food Microbiology*. **164** Suppl 3:S161-165

### H

**Haut conseil de la santé publique. (2010).** Rapport de Recommandations relatives aux mesures à mettre en œuvre pour prévenir l'émergence des entérobactéries BLSE et lutter contre leur dissémination. **13p**

### J

**Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. (1988).** Extended broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae.hospital prevalence and susceptibility patterns. **10** Suppl 4:867-878.

**Jasson V, Sampers I, Botteldoorn N, López-Gálvez F, Baert L, Denayer S et al. (2009).** Characterization of *Escherichia coli* from raw poultry in Belgium and impact on the detection of *Campylobacter jejuni* using Bolton broth. *International Journal of Food Microbiology*. **135**, 248-253

**L**

**Lavigne JP, Sotto A, Merle C, Jourdan J, Soussy CJ, Sirot D. (2002).** Résistance enzymatique d'*Escherichia coli* aux  $\beta$ -lactamines et prévalence en Clinique. Pathologie Biologie .**50**, 388-393.

**Le Minor L, Richard C. (1993).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries. Institut Pasteur, France.217p.

**Levy SB, Marshall B, Petrowski D. (1990).** Inter and intraspecies spread of *Escherichia coli* in a farm environment in the absence of antibiotic usage. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America.**87**17, 6609-6613.

**Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N.( 2007).** CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. **59**, 165-174.

**M**

**Meziane FZ. (2011).** La filière ponte en Algérie : État des lieux et perspectives d'avenir. 6èmes Journées de Recherches sur les Productions Animales, Université M. Mammeri, Tizi-Ouzou. (Communication 63).

**Miranda JM, Vázquez BI, Fente CA, Calo-Mata P, Cepeda A, Franco CM.(2008).** Comparison of antimicrobial resistance in *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes* strains isolated from organic and conventional poultry meat. Journal of Food Protection. **71** Suppl 12:2537-2542.

**Moritz van Vuuren. (2001).** Résistance aux antibiotiques, notamment en aviculture. Université de Pretoria, Afrique. **123**, 123-134.

**Musgrove MT, Jones DR, Northcutt JK, Cox NA, Harrison MA, Fedorka-Cray PJ, Ladely SR. (2006).** Antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolated from commercial shell eggs. Poultry Science. **85**, 1665-1669.

**N**

**Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V.(2012).** European Network on Carbapenemases. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clinical Microbiology Infection .**18** Suppl 5:432-438

**O**

**Oosterik LH, Peeters L, Mutuku I, Goddeeris BM, Butaye P.(2014).** Susceptibility of avian pathogenic *Escherichia coli* from laying hens in Belgium to antibiotics and disinfectants and integron prevalence. Avian Diseases. **58**, 271-278.

**P**

**Persoons D, Dewulf J, Smet A, Herman L, Heyndrickx M, Martel A, Catry B, Butaye P, Haesebrouck F. (2010).** Prevalence and persistence of antimicrobial resistance in broiler and indicator bacteria. Microbial Drug Resistance.**16**, 67-74.

**Perugini AG , Agnoletti B , Mazzolini E , Bartoli M , Capuano F , Bano L , Cattoli G , Cerrone A , Fenizia D.(2005).** Caractérisation de la résistance aux antibiotiques et identification des gènes de résistance de souches d'*Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC) du lapin en Italie. 11<sup>ème</sup> journées de la recherche cunicole. 245-248

**Perrin-Guyomard A, Cottin S, Corpet DE, Boisseau J, Poul JM. (2001).**Evaluation of residual and therapeutic doses of tetracycline in the human-flora-associated (HFA) mice model. Regulatory Toxicology and Pharmacology .34 Suppl 2:125-136.

### R

**Robbarts FJL, Kohner PC, Patel R.(2009).** Unreliable Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase Detection in the Presence of Plasmid-Mediated *AmpC* in *Escherichia coli* Clinical Isolates. Journal of Clinical Microbiology.358-361.

### S

**Sanders P. (2005).** L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. Bull. Acad. Vét **158**,137-143.

**Sanders P, Bousquet-Mélou A, Chauvin C, Toutain PL. (2011).**Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. INRA Productions Animales. 199-204.

**Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Catry B, Herman L, Haesebrouck F, Butaye P.(2008).** Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* Isolates in Belgian broiler farms. Antimicrobial Agents Chemotherapy. **52**, 1238-1243.

**Stepień-Pyśniak D.(2010).** Occurrence of gram-negative bacteria in hens' eggs depending on their source and storage conditions. Polish Journal of Veterinary. **13** Suppl 3: 07-13.

### T

**Tatsadjieu Ngoune L, Kemgang ST, Mbofung CMF. (2009).**Impact de l'utilisation des antibiotiques sur la sensibilité des pathogènes de poules dans la ville de Ngaoundéré. Cameroon Journal of Experimental Biologie.**05** Suppl 02 : 52-61.

### V

**Van den Bogaard AE, Stobberingh EE.(2000).**Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. *Int J\_ Antimicrob\_Agents*. **14**, 327-335.

**Van Eekeren N, Maas A, Saatkamp HW, Verschuur M. (2006).** L'élevage des poules à petite échelle. Université de Wageningen- Recherche en Nutrition Avicole.4<sup>ème</sup> Edition.Wageningen.**18p**

**Van Immerseel F ,De Buck J , Boyen F , Pasmans F ,Bertrand S , Collard JM , Saegerman C , Hooyberghs J , Haesebrouck F , Ducatelle R . (2005).** *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les œufs : un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace.Annales Médecine Vétérinaire. **149**,34-48.

### Y

**Yang N, Jin Y, Wang H, Xiang D, Xu B, Zhengyu J, Xueming X. (2015).**Evaluation de la conductivité et de la teneur en humidité au cours du stockage des œufs en utilisant la méthode de transformation. *Journal of Food Engineering.* **155**,45-52

**Z**

**Zoubra A. (2011).** La filière avicole à Tizi-Ouzou à l'horizon 2011. 6èmes Journées de Recherches sur les Productions Animales, Université M. Mammeri, Tizi-Ouzou. (Communication 69).

# Annexes

---

**Annexe N°I**

**Composition des différents milieux de cultures utilisés** (pour 1 litre d'eau distillée)

**Bouillon Clark et Lubs**

Peptone tryptique de viande.....5g.

Phosphate bipotassique.....5g.

Glycose.....5g.

pH final :  $7 \pm 0,2$

**Bouillon Eau Peptonée Exempte d'Indole**

Peptone.....10g.

Tryptone.....10g.

Chlorure de Sodium.....5g.

pH final :  $7,2 \pm 0,2$

**Bouillon nitraté**

Infusion cerveau-cœur.....25g.

Nitrate de potassium.....10g.

pH final :  $7,2 \pm 0,2$

**Bouillon nutritif**

Extrait de viande.....5g.

Nacl.....5g.

pH final :  $7,2 \pm 0,2$

**Eau physiologique**

Nacl.....9g.

pH final : 7

---

**Gélose PCA ( Plate Count Agar)**

Tryptone.....	5g.
Extrait de levure.....	2,5g.
Glucose.....	1g.
Agar.....	15g.

pH final :  $7\pm 0,2$

**Muller-Hinton**

Infusion de viande de bœuf déshydraté.....	3g.
Hydrolysate de caséine.....	17,5g.
Amidon.....	1,5g.
Agar.....	10g.

pH final :  $7,4 \pm 0,2$

**TSI (Triple sugar Iron)**

Peptone.....	20g.
Extrait de viande.....	2,5g.
Extrait de levure.....	3g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Citrate ferrique.....	0,5g.
Thiosulfate de sodium.....	0,5g.
Lactose.....	10g.
Saccharose.....	10g.
Glucose.....	1g.
Rouge de phénol.....	0,024g.
Agar.....	11g.

pH final :  $7,4\pm 0,2$

---

**Urée-Indole**

L-Tryptophane.....	3g.
Phosphate dipotassique.....	1g.
Phosphate monopotassique.....	1g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Urée.....	20g.
Rouge de phénol.....	2,5g.

pH final : 7,4±0,2

**Milieu EMB**

Peptone.....	10g.
Lactose .....	10g.
Éosine .....	0,4g.
Bleu de méthylène .....	0,062g.
Hydrogénophosphate de potassium.....	2g.
Agar .....	15g.

pH final : 6,8±0,2

**Milieu Mac-Conkey**

Peptone.....	20g.
Agar.....	15g.
Lactose.....	10g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Sels biliaries.....	1,5g.
Rouge neutre.....	0.03g.
Cristal violet.....	0,001g.

pH final : 7,1±0,2



---

**Annexe N°II**  
**Composition des réactifs**

**Réactif de Voges-Proskauer (VP I)**

$\alpha$ -naphthol.....	6g.
Alcool à 90(qsp).....	100ml.

**Réactif de Voges-Proskauer (VP II)**

NaOH4N.	
$\alpha$ -Naphtylamine.....	6g.
Acide acétique 5N.....	1L.

**Réactif de Kovacs**

Alcool amylique.....	5g.
Paradiméthylamino-benzaldéhyde.....	75g.
HCl pur.....	25ml.

**Réactif de Nitrate réductase****→ Réactif de Griess I (NR I)**

Acide sulfanilique.....	0,5g.
Acide acétique.....	50ml.

**→ Réactif de Griess II (NR II)**

$\alpha$ -naphtylamine.....	0,2g.
Acide acétique.....	50ml.

**PH final : 7,5**

**Réactif de Tryptophane désaminase (TDA)**

Soluté de perchlorure de fer  $FeCl_3$ .....10ml.

Eau distillée.....20ml.

**Rouge de Méthyle(RM)**

Eau bidistillée.....50cc.

Ethanol absolu.....50cc.

Rouge de méthyle.....0, 1g.

## Annexe N°III

Familles et concentration des antibiotiques utilisés.

<b>Famille</b>	<b>Antibiotiques</b>	<b>Charge</b>
Aminosides	Amikacine Gentamycine	<b>AK</b> : 30 µg <b>CN</b> : 10 µg
β-lactamines	Amoxicilline+Acide clavulanique Ertapénème Ampicilline Céfépime Céfliofur	<b>AMC</b> : 20+10µg <b>ETP</b> : 10 µg <b>AMP</b> : 10 µg <b>FEP</b> : 30 µg <b>EFT</b> : 30 µg
Fluoroquinolone	Enrofloxacin	<b>ENR</b> : 5 µg
Quinolones	Fluméquine	<b>UB</b> : 30 µg
Tétracyclines	Tétracycline	<b>TE</b> : 30 µg

## Annexe N°IV

## Les Résultats d'identifications des souches isolées sur EMB

P	N° de souche	Code de la Souche	lactose	glucose	CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> S	Indole à 44°C	souche
P°01	N°01	P1 C10	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°02	P1 C19	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°03	P1 C21	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°04	P1 C22	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°05	P1 C26	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
P°02	N°06	P2 C02	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°07	P2 C03	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°08	P2 C06	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°09	P2 C09	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°10	P2 C13	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
P°03	N°11	P2 C18	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°12	P3 C02	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°13	P3 C04	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°14	P3 C08	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°15	P3 C09	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°16	P3 C10	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°17	P3 C18	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
P°04	N°18	P3 C27	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°19	P4 C01	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°20	P4 C02	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°21	P4 C03	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°22	P4 C04	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°23	P4 C05	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°24	P4 C06	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°25	P4 C07	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°26	P4 C08	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°27	P4 C09	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°28	P4 C10	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°29	P4 C12	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°30	P4 C13	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°31	P4 C14	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°32	P4 C15	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°33	P4 C16	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°34	P4 C22	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°35	P4 C24	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°36	P4 C25	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°37	P4 C29	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
P°05	N°38	P4 C30	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°39	P5 C01	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°40	P5 C02	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°41	P5 C06	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°42	P5 C07	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°43	P5 C09	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°44	P5 C10	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°45	P5 C16	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°46	P5 C25	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°47	P6 C01	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°48	P6 C03	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°49	P6 C04	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>

---

<b>P°06</b>	N°50	P6 C05	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°51	P6 C06	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°52	P6 C09	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°53	P6 C10	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°54	P6 C11	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°55	P6 C13	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°56	P6 C15	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°57	P6 C18	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°58	P6 C20	+	+	-	-	+	<i>E.coli</i>
	N°59	P6 C21	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°60	P6 C23	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	N°61	P6 C27	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>

---

## Résumé

Le but de la présente étude était d'une part d'évaluer le taux de résistance aux antibiotiques et d'autre part de rechercher des souches d'entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) et/ou résistantes aux carbapénèmes dans les œufs de consommation. A cet effet, nous avons isolés 61 souches d'*E. coli* à partir de 180 œufs dépistés. Les souches d'*E. coli* isolées ont présentées une résistance importante à la gentamicine (CN), tétracycline (TE) et plus ou moins à l'ampicilline(AMP) et l'amoxicycline (AMC) avec des pourcentages de 98.36%, 68.85%, 49.18% et de 39.34%, respectivement. La résistance aux quinolones et fluoroquinolones est également observée parmi ces souches d'*E.coli* avec un taux de 11.47% .Nous avons également isolés six souches d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (céftiofur) avec une prévalence 3.3% (6/180). Parmi elles deux *E. coli* productrices de BLSE et 4 souches multi résistantes. Aucune souche d'entérobactérie n'est résistante à l'ertapénème.

**Mots clés :** Entérobactéries, œufs de consommation, BLSE, résistance, *E.coli*.

## Abstract

The purpose of this study was firstly to assess the antibiotic resistance rates and partly to search for enterobacteriaceae strains producing  $\beta$ -lactamases broad-spectrum (ESBL) and / or resistant to carbapenems in table eggs. To that effect, we have isolated 61 strains of *E. coli* from 180 eggs. The *E. coli* strains isolated have shown significant resistance to gentamicin (CN), tetracycline (TE) and more or less to ampicillin (AMP) and the Amoxicillin (AMC) with percentages of 98.36%, 68.85%, 49.18% and 39.34%, respectively. Resistance to quinolones and fluoroquinolones is also observed among these strains of *E. coli* with a rate of 11.47%. We also isolated six enterobacteria strains resistant to third generation cephalosporins (ceftiofur) with a 3.3% prevalence (6/180). Among them two *E. coli* ESBL-producing and 4 strains multi-resistant. No enterobacteria strain is resistant to ertapenem.

**Key words:** Enterobacteria, table eggs, ESBL, resistance, *E.coli*.