

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. Mira – Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire



Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Criblage des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération dans les œufs de consommation dans la wilaya de Bejaïa.

Présenté par :

Ayouni Lynda & Galou Célya

Soutenu le : **19 juin 2017**

Devant le jury composé de

M^{me} Keramane B

M.C.B.

Président

M^{lle} Mezhoud H

M.A.A.

Encadreur

M. Touati A

Pr.

Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017

Dédicace...

J'ai le plaisir de dédier ce travail

*A Vava, tu n'as jamais quitté ce monde pour moi car dans mon cœur tu demeures. Merci
d'avoir fait de moi ce que je suis.*

*A Yemma, Pour te décrire il me faudra quelque chose de plus que des mots, car quel que
soit le terme et quelle que soit l'expression, rien ne saura te tracer à mes yeux tel que mon
cœur te voit et t'aperçoit. Merci à yemma d'être toi et d'être toujours là, que Dieu te
préserve et te garde à mes côtés.*

A mes sœurs et frères, vous êtes mes guides et ma lumière ...

A mes beaux-frères, et belles sœurs, merci pour votre soutien et vos encouragements...

*A mes neveux et nièces, merci de faire de notre vie un bonheur...Spécial dédicace à Yanis,
que ton âme repose en paix,*

*A mes deux meilleures amies, loin de moi mais très proches de mon cœur, merci de toujours
répondre présentes ...*

*A mon binôme et sa famille, travailler avec toi a été un plaisir et j'espère que ce n'est que
le début d'une belle amitié...*

A tous mes amis vétérinaires et biologistes et aux moments passés ensembles...

A toi, oui toi ...

Et à moi bien sûr...

Célysa

Dédicace...

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui m'encouragent à aller de l'avant et qui m'ont
appris le chemin de la réussite et du succès*

A ma grand-mère SETTI MAMA, ma première école de la vie.

*A mes chers parents, ce n'est qu'un simple fruit de vos sacrifices et votre éducation
spéciale,*

*Vous êtes ma raison de réussir et de continuer à avancer dans le chemin que vous avez
tracé !*

Tout le mérite vous revient !

A mes très chères sœurs : Karima, Daya, Zahra, Thinhinane et Lyakouth ;

sans vous je ne serais pas aussi gâtée, vous êtes ma force !

*A mon cher et unique frère Lahcene, pour ta présence dans chaque moment important
pour moi !*

A mes adorables neveux et nièces : Yani, Aylan, Nylia, Silas et Anya ;

Vous êtes notre joie de vivre !

A mon binôme Célya sans qui ce travail n'aurait pas été réalisé,

You are the best !

*A mon amie de tous les temps, nos moments partagés me manquent, mais malgré cette
distance ton réconfort et ton soutien sont toujours présents!*

A toute ma famille, cousins et cousines, grands et petits.

A mes amis vétérinaires et biologistes, aux moments consacrés pour les études ensemble.

LYNDA

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier tout particulièrement

Notre promotrice M^{me} Mezhoud Halima pour l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour ses précieux conseils, orientations et la confiance placée en nous, nous garderons surtout des souvenirs de ces qualités professionnelles et profondément humaine, alors grand merci.

Nous remercions également M^{me} Keramane présidente, pour avoir accepté notre jury.

Nous tenons vivement à remercier le Pr. Touati pour avoir accepté d'examiner notre travail et porter un jugement critique et judicieux sur ce dernier.

Nous adressons nos sincères remerciements :

Au Docteurs Menasria et Haraounine pour leur aide et leur sérieux.

A tout le personnel du laboratoire d'écologie microbienne qui nous ont prêté main forte au cours de notre stage afin de réaliser notre travail.

A tous nos enseignants et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Célya & Lynda

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction	1
I. Synthèse bibliographique	3
I.1. La composition et les qualités nutritionnelles de l'œuf	3
I.2. La flore microbienne de l'œuf et sources de contamination	5
I.3. Résistance aux antibiotiques de la flore microbienne de l'œuf	7

Partie pratique

II. Matériel et Méthodes	9
II.1. Echantillonnage	9
II.2. Enrichissement.....	10
II.3. Isolement des souches d'entérobactéries résistantes aux C3G.....	10
II.4. Identification biochimique.....	10
II.5. Antibiogramme standard	11
II.6. Recherche de β -lactamases à spectre étendu	12
II.6.1. DD-test (test de synergie).....	12
II.6.2. DD-test sur gélose à la cloxacilline.....	13
II.7. Détermination de certains traits de virulence.....	13
II.7.1. Fixation du rouge de Congo.....	13
II.7.2. Test d'hémagglutination	13
III. Résultats et discussion	14
III.1. Résultats	14
III.1.1. Echantillonnage.....	14
III.1.2. Isolement des souches d'entérobactéries résistantes aux C3G	15
III.1.3. Recherche de β -lactamases à spectre étendu	15

III.1.4. Résistance aux autres familles d'antibiotiques des entérobactéries résistantes au ceftiofure.....	17
III.1.5. Les tests de virulence effectués sur les souches résistantes au ceftiofure	18
III.2. Discussion	20
Conclusion	23
Références bibliographiques	24

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre	Page
I	Les informations de chaque prélèvement.	9
II	Les antibiotiques testés et leurs abréviations.	12
III	Répartition des échantillons par région graphique de la wilaya de Bejaia.	14
IV	Tableau récapitulatif des profils de résistance aux β -lactamines des souches d'entérobactéries résistantes au ceftiofure.	16
V	Tableau comparatif des diamètres des zones d'inhibition sans et avec Cloxacilline	17
VI	Profils de résistance des souches d'entérobactéries résistantes au ceftiofure aux autres familles d'antibiotiques.	17
VII	Les résultats du test de fixation du Rouge de Congo.	18

Liste des figures

N° figures	Titre	Page
1	Coupe de l'œuf de poule	3
2	Carte représentant la répartition des échantillons par région graphique de la wilaya de Bejaia.	15
3	Résultats d'un DD-test positif.	16
4	Images représentant les résultats du test de fixation au Rouges de Congo aux trois différentes températures (TA, 37°C, 44°C).	18
5	Image représentant les résultats du test d'hémagglutination.	19

Introduction

Les œufs de poules ont été une partie importante de l'alimentation humaine depuis l'aube de l'histoire enregistrée et ils ont été l'un des rares aliments utilisés dans le monde entier. Aujourd'hui, les œufs sont largement distribués dans le commerce international, la production des œufs est donc un segment important de l'industrie alimentaire mondiale (Mine, 2002).

La consommation des œufs peut faire partie d'une alimentation saine car ils sont considérés comme les sources les plus nutritives et économiques de protéines, lipides, vitamines et minéraux (Ashish et Rajesh, 2017). Cette richesse en substances nutritives crée un milieu approprié au développement de la flore microbienne, y compris la flore pathogène.

La contamination bactérienne des œufs peut être acquise par voie verticale, due à une particularité anatomique des poules qui est la présence d'un tractus digestif, urinaire et génital commun qui peut contribuer à la contamination externe de la coquille durant son passage dans cette région. Et horizontale qui correspond à la contamination de la surface de la coquille des œufs après la ponte, par contact avec les microorganismes des fientes, de l'environnement d'élevage ou, en aval, du centre de conditionnement (Baron et Jan, 2010).

Il a été prouvé que la microflore de la coquille externe de l'œuf est dominée par les bactéries Gram positif qui sont capables par certains mécanismes de dépasser les défenses antimicrobiennes du contenu de l'œuf (De Reu et *al.*, 2008). Donc la moindre fêlure de la coquille est considérée comme un moyen pour les bactéries de la surface de pénétrer à l'intérieur (De Reu et *al.*, 2006).

Plusieurs études ont démontré la présence des souches d'*E. coli* dans la coquille à différentes étapes de la chaîne de production (Chousalkar et *al.*, 2010). Les œufs vont servir donc de véhicule pour les bactéries pathogènes dont les résistantes aux antibiotiques dans la chaîne alimentaire (Grande Burgos et *al.*, 2016).

L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques sont le résultat d'une pression sélective exercée par les agents antimicrobiens et de la transmission de

micro-organismes résistants (Carle, 2010) citée par Belmahdi en 2010. Ainsi le traitement est devenu plus difficile en médecine humaine et animale (Ashish et Rajesh., 2017).

La résistance aux antimicrobiens est un problème de plus en plus global, et la résistance antimicrobienne émergente est devenue un problème de santé publique dans le monde entier (Kaye et *al.*, 2004). En Algérie, le suivi de l'évolution de la résistance aux antibiotiques particulièrement la recherche des souches productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) dans les œufs de consommation n'est pas pris en charge par un organisme officiel et peu de travaux ont été réalisés à propos de ce sujet (Behira et *al.*, 2012).

Durant notre travail nous allons nous intéresser à la recherche de bactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération, antibiotiques non homologués en aviculture dans la coquille des œufs de consommation prélevés au niveau de différentes fermes de poules pondeuses de la Wilaya de Bejaia.

Synthèse bibliographique

I. Synthèse bibliographique

I.1. Composition et les qualités nutritionnelles de l'œuf

Les œufs sont composés de trois constituants principaux : le blanc (59%), le jaune (31%) et la coquille (10%) à laquelle sont associées les différentes membranes. De l'intérieur vers l'extérieur, on trouve : Le vitellus (ou jaune d'œuf) composé du disque germinatif et sa réserve multi nutritionnelle ; l'albumen (ou blanc d'œuf) entourant l'œuf et jouant un rôle nutritif, de soutien et de protection contre l'invasion microbienne, les membranes coquillières (interne et externe) et la coquille recouverte d'une cuticule protéique (Nathier-Dufour, 2005). La figure N°1 représente la structure interne de l'œuf.

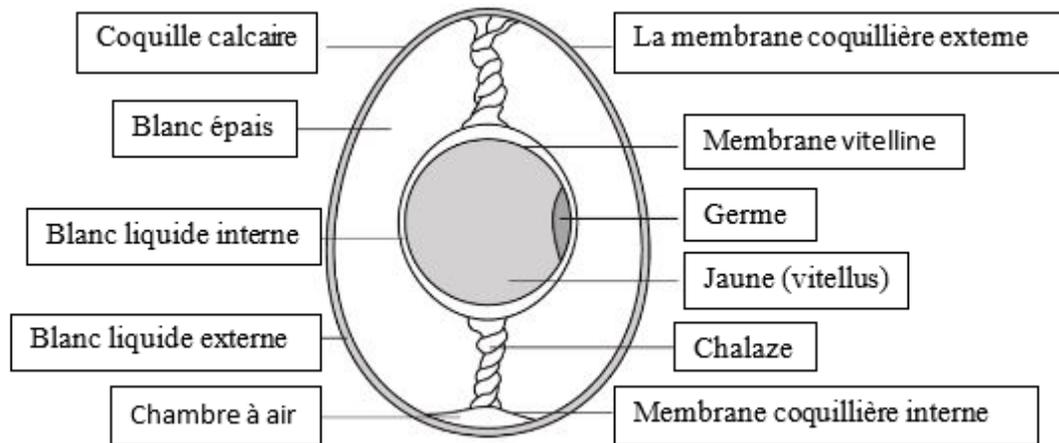


Figure N°1 : Coupe de l'œuf de poule (Dessin d'E. Souverbie).

L'albumen occupe 60% de l'œuf entier par son poids et sa teneur majeure en eau. Il contient 9,7 à 11% de différentes protéines. Ovalbumine est la protéine majeure et forme 54% des protéines totales du blanc d'œuf. Ovotransferrine (conalbumine) et ovomucoïde qui sont de 12% et 11% respectivement et d'autres protéines : ovomucine, ovoglobuline, lysozyme, ovomacroglobuline, ovoglycoprotéines, flavoprotéine, ovoinhibiteur, cystatine et avidine. Les carbohydrates qui sont de 0,5 à 0,6% du blanc se trouvent sous forme libre ou liés aux protéines. La présence des lipides dans le blanc est négligeable par rapport au jaune (Li-Chan et *al.*, 1995).

Le vitellus ou le jaune est un mélange de différentes microparticules tenues en suspension. Les protéines et les lipides sont des constituants majeurs du jaune ; ils sont de 15,7 à 16,6% et 32 à 35% respectivement. La fraction du jaune contient

approximativement 66% de triglycérol, 28% des phospholipides, 5% de cholestérol et des teneurs minimales des autres lipides (Mine, 2002).

La coquille est constituée par une trame protéique calcifiée constituant une coque percée de nombreux pores distribués de façon homogène permettant des échanges respiratoires indispensables à l'embryon. La coquille n'est pas une protection antibactérienne efficace (Nathier-Dufour, 2005).

Les membranes coquillières sont en nombre de deux, formées de fibres de kératine et contenant plus au moins du lysozyme, une enzyme antibactérienne particulièrement active contre les bactéries Gram-positif. Les membranes coquillières empêchent les bactéries de traverser ou les détruisent (Nathier-Dufour, 2005).

Les œufs entiers sont composés de 74% d'eau, ils constituent une source riche en protéines et en acides gras insaturés, fer, phosphore, vitamines A, E, K et B et quelques traces de minéraux (Watkins, 1995). Les œufs fournissent une source équilibrée et unique de nutriments pour les personnes de tout âge (Mine, 2002).

Les protéines de l'œuf ont une qualité qui est essentiellement relative à leurs acides aminés et leur digestibilité. Elles ont une meilleure digestibilité par rapport aux protéines des autres aliments, elles fournissent tous les acides aminés essentiels en quantités qui correspondent étroitement aux exigences humaines (Ren et *al.*, 1995).

La partie significative des lipides est un groupe de phospholipides non saturés, qui sont des composants des membranes cellulaires, agissent de manière protectrice sur le système cardiovasculaire et contribuent à une diminution du taux de cholestérol et de la tension artérielle. Une autre substance importante est la cystatine des œufs, qui a la capacité de stimuler la croissance cellulaire, inhiber les processus inflammatoires et a des propriétés antibactériennes et antivirales. Il existe également une immunoglobuline Y qui est utilisée dans le traitement des infections bactériennes du système digestif. L'œuf est une riche source de rétinol dont l'appauvrissement progressif dans l'organisme provoque de nombreuses pathologies oculaires. Une partie très importante et utile de l'œuf, utilisée en médecine, est la coquille et ses membranes, en raison de la teneur élevée en collagène pertinente dans le traitement des maladies du tissu conjonctif (Zdrojewicz et *al.*, 2016).

I.2. Flore microbienne de l'œuf et source de contamination

Après plusieurs études, la composition approximative de la flore microbienne de l'œuf a été obtenue à partir des lavages de coquilles d'œufs nouvellement posés sur la gélose nutritive à pH 7,4 et à 20°C. 38% de bactéries non sporogènes (19% d'*Achromobacter*, 6% de *Pseudomonas*, 4% d'*Alkaligenes*, 4% de coliformes, 3% de Flavobactéries, 1% de *Proteus aeruginosus*), 30% de bactéries sporogènes (12% de *Bacteroides vulgatus*, 10% de *Bacillus subtilis*, et 6% non identifié et 2% de *Bacillus mycoides*), 25% de bactéries coques (18% de Microcoques, 5% de Staphylocoques et 2% de Sarcinae), 4% de levures et 3% des Actinomyces (Haines, 1937). La coquille d'œufs peut contenir des bactéries qui causent des intoxications alimentaires et commensales résistantes aux antibiotiques (Musgrove et al., 2006).

Différentes études ont été menées sur l'examen bactériologique des œufs afin de déterminer la charge bactérienne du contenu des œufs ; le blanc et le jaune juste après la ponte et après des mois de stockage. Les blancs d'œufs nouvellement posés sont stériles à 98% et 93% de jaunes sont jugés stériles mais y a un pourcentage minime infecté qui est de 2% pour le blanc et de 7% pour le jaune. Les micro-organismes isolés des œufs «éventuellement infectés» au début du stockage comprenaient des bactéries sporogènes à Gram positif et certaines bactéries coques à Gram positif. Après stockage le jaune n'est pas très infecté par rapport à l'accumulation de germes dans le blanc (Haines, 1937).

Au moment de la ponte, le contenu des œufs provenant d'élevages sains est en général stérile (Baron et Jan, 2010). La plupart des œufs ne contiennent pas de bactéries lorsqu'ils sont posés et ne sont contaminés que par la suite. La membrane de coquille offre la meilleure protection contre la pénétration bactérienne, mais une fois à l'intérieur de l'œuf, leur croissance et leur multiplication sont ralenties en raison de la nature visqueuse des protéines de blancs d'œuf, leur pH et les propriétés bactéricides du lysozyme et du conalbumen (Mayes et Takeballi, 1983). Donc la généralisation selon laquelle environ 90% des œufs nouvellement ensemencés sont exempts de microorganismes est maintenant généralement acceptée, avec un chiffre réel qui peut être encore plus élevé (Mayes et Takeballi, 1983). La contamination se produit habituellement après la ponte (Jones et al., 2004).

Les microorganismes peuvent contaminer les œufs à différents stades, de la production au traitement, à la préparation et à la consommation. La transmission transovarienne ou "verticale" des microorganismes survient lorsque les œufs sont infectés lors de leur formation dans les ovaires de la poule. La transmission horizontale survient lorsque les œufs sont ensuite exposés à un environnement contaminé et que les microorganismes pénètrent dans la coquille d'œuf (De Reu et *al.*, 2006). Il semble que la plupart des œufs reçoivent leur première charge de contamination à l'oviposition et on peut donc considérer que la contamination majeure (mais pas la totalité) de l'œuf est d'origine externe (Mayes et Takeballi, 1983).

En effet, l'œuf peut être contaminé par voie verticale lors de sa formation dans l'oviducte ; cette contamination peut se produire si les poules présentent une infection des ovaires ou de l'oviducte (Baron et Jan, 2010). Dans cette voie transovarienne, le jaune (très rarement le jaune vif), l'albumine et / ou les membranes sont directement contaminés par une infection bactérienne des organes reproducteurs (Reu *et al.*, 2008). La contamination verticale concerne principalement les souches de *Salmonella*, mais des études évoquent aussi l'implication de bactéries de l'espèce *Campylobacter jejuni* et du virus de l'Influenza aviaire (Baron et Jan, 2010).

Après ponte, les œufs sont exposés à la contamination horizontale. Cette dernière est beaucoup plus fréquente que la contamination verticale. Elle correspond à la contamination de la surface de la coquille des œufs, elle intervient par contact avec les microorganismes des fientes, de l'environnement d'élevage ou, en aval, du centre de conditionnement (Baron et Jan, 2010).

Après l'oviposition, tout environnement contaminé dans la zone de l'œuf posé, peut entraîner une contamination externe des coquilles. La présence de fumier de poulet et d'autres matières organiques humides facilite la survie et la croissance des microorganismes dont *Salmonella* en fournissant les nutriments requis et un degré de protection physique (Gantois et *al.*, 2009). Selon des études, les niveaux de contamination de la coquille en flore mésophile aérobie varient de $1,04 \cdot 10^2$ à $1,06 \cdot 10^2$ UFC/œuf cité par Baron et Jan (2010). De Reu et *al* (2006a) ont identifié les espèces majoritaires présentes sur les coquilles, ils ont observé une prédominance d'*E.coli* ($5,5 \cdot 10^4$ UFC/œuf) et du genre *Staphylococcus* ($4,3 \cdot 10^4$ UFC/œuf), cité par Baron et Jan (2010).

Une fois que l'œuf a été posé, il est habituellement humidifié et devient souillé en même temps. La présence de saleté dans l'environnement s'ajoute au nombre d'organismes contaminants (Mayes et Takeballi, 1983). Un nombre croissant de micro-organismes sur la coquille d'œufs augmente par conséquent le risque de pénétration microbienne de coquilles d'œufs et de contamination des œufs (Messens et *al.*, 2005).

La seule voie par laquelle les bactéries peuvent entrer dans la partie intérieure de l'œuf est par les pores. Comme la cuticule est humide à ce stade, l'invasion microbienne de la coquille pourrait se produire. La condition humide favorise la croissance des moisissures à la surface de la coque. La croissance des hyphes des moisissures facilite l'agrandissement des pores, ce qui contribue à l'entrée de bactéries dans l'œuf (Mayes et Takeballi, 1983). Une humidité importante, associée à des variations de température, favorise la pénétration par rétraction du contenu de l'œuf et absorption de l'eau et des microorganismes présents sur la coquille (Baron et Jan, 2010).

D'autres facteurs favorisant la pénétration des microorganismes dans les œufs tels que : le poids de l'œuf, l'épaisseur de la coquille, le nombre de pores et la qualité de la cuticule (Allen et Griffiths, 2001) ; (Messens et *al.*, 2005). Les facteurs influençant la pénétration de la coquille semblent donc être essentiellement le niveau de contamination de l'œuf en surface et l'absence de fêlures ou de défaut de calcification de la coquille (Baron et Jan, 2010).

I.3. Résistance aux antibiotiques de la flore bactérienne de l'œuf :

Les agents antimicrobiens sont largement utilisés dans la production de volaille et sont habituellement administrés dans les aliments pour animaux ou dans l'eau potable (Gyles, 2008) à des fins préventifs, contrôle, traitement et comme promoteur de croissance (FAO / OMS / OIE, 2008 ; Gyles 2008 ; Hur et *al.*, 2012; Collignon et *al.*, 2013). Cette utilisation a contribué à la transformation de l'industrie de la volaille d'un grand nombre de petits agriculteurs à un nombre plus restreint de grands producteurs qui opèrent à haute efficacité (Bywater, 2005), mais aussi considérée comme l'une des principales sources de nouvelles combinaisons de résistance aux antibiotiques (Lepelletier et *al.*, 2015).

L'utilisation des antibiotiques varie d'un pays à un autre et d'une région à une autre. Par exemple, l'utilisation des antibiotiques comme promoteurs de croissance est

interdite en Europe (UE) alors que c'est permis aux USA et au Canada et beaucoup d'autres pays (Gyles, 2008). Parmi les antibiotiques disponibles pour être utilisés comme agents favorisant la croissance : la bacitracine au zinc, la pénicilline procaine, les tétracyclines, la tylosine, la virginiamycine et la monensine ; pour la prophylaxie et la thérapie : l'amoxicilline, les sulfamides, la tylosine, les fluoroquinolones, les lincosamides, les amino-glycosides, les tétracyclines, les colistines et les pleuromutilines (Gyles, 2008). Environ 32 molécules d'antibiotiques sont identifiées comme étant efficaces et/ou recommandés pour traiter des maladies de la volaille (Agunos et al., 2013).

L'utilisation d'agents antimicrobiens peut entraîner l'émergence et la dissémination de la résistance pour ces molécules chez les agents pathogènes cibles et la flore bactérienne normale (EFSA, 2009), ce qui constitue de ce fait une préoccupation mondiale importante tant pour la santé animale que pour la santé publique (Hur et al., 2012) conduisant à une menace d'impasses thérapeutiques (Lepelletier et al., 2015), notamment dans le traitement des maladies infectieuses et alimentaires (Ashish et Rajesh, 2017).

Différentes études ont rapporté une forte prévalence d'entérobactéries résistantes aux antimicrobiens chez le poulet de chair (Kola et al., 2012), poules pondeuses (Van hoorebeke et al., 2011), les œufs à couver (Mezhoud et al., 2016) et les œufs de table (Adesiyun et al., 2005 ; Musgrove et al., 2006 ; Suresh et al., 2006 ; Rasheed et al., 2014 ; Grande Burgos et al., 2016).

La résistance antimicrobienne chez *E. coli* a été signalée dans le monde entier. Le traitement contre l'infection par *E. coli* est de plus en plus compliqué par l'apparition d'une résistance à la plupart des agents antimicrobiens de première ligne (Sabaté et al., 2008). Au fil des ans, la résistance aux céphalosporines chez les entérobactéries a augmenté principalement en raison de la propagation des β -lactamases à spectre étendu (Rasheed et al., 2014).

Partie pratique

II. Matériel et méthodes

II.1. Echantillonnage

Notre étude est effectuée au niveau du Laboratoire d'Ecologie Microbienne de l'université de Bejaia durant la période allant du mois de février jusqu'au mois de mai 2017. Au cours de cette période, des œufs de consommation sont collectés dans les heures qui suivent la ponte ; à partir de différentes fermes provenant de dix régions différentes de la wilaya de Bejaia. Le tableau ci-dessous représente toutes les informations concernant chaque prélèvement.

Tableau N°I : Les informations de chaque prélèvement.

N °du prélèvement	Date du prélèvement	La région	Effectif	Age des poules (semaines)	Nombre d'œufs collectés
01	11/02/2017	Adekar	3600	63	30
02	11/02/2017	Riquet (Akbou)	2880	34	28
03	18/02/2017	Beni ksila	4800	73	25
04	18/02/2017	Ighilali	6000	76	28
05	01/03/2017	Timezrit	7000	57	29
06	01/03/2017	Tazmalt	3000	84	28
07	13/03/2017	Assif el hemmam (Adekar)	4800	74	30
08	13/03/2017	Semaoun	5200	80	30
09	21/03/2017	Akbou	4800	48	40
10	25/03/2017	Baccaro	2400	70	40

Pour l'isolement des bactéries à partir de la coquille des œufs, nous avons utilisé la technique de Musgrove et *al* (2005a, b) légèrement modifiée. Brièvement, 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 mise dans un tube Falcon de 50 ml.

II.2. 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.

II.3. Isolement des souches d'entérobactéries résistantes aux C3G

Après un enrichissement d'une nuit, l'ensemencement est effectué par 1 ml du bouillon nutritif sur un milieu sélectif de bactéries à Gram négatif (MacConkey), additionné de 2µg/ml (8µl de ceftiofure à 50µg/ml pour un flacon de 200 ml du milieu). Les boîtes sont ainsi incubées à 37°C pour 18 à 24h. Toutes les colonies présomptives d'être des entérobactéries sont prises pour de plus amples tests.

II.4. 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'H₂S sur gélose TSI.
- Recherche de la nitrate-réductase sur bouillon nitraté.
- Recherche de la mobilité, d'uréase, et de la production d'indole, sur milieu motilité-urée-indole (MUI).
- Etude du type fermentaire (réaction de Voges-Proskauer et RM) sur milieu Clark et Lubs.
- Utilisation du citrate sur milieu citrate de Simmons.

II.5. Antibiogramme standard

Toutes les souches d'entérobactéries obtenues ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques par un antibiogramme standard 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 à l'aide d'un vortex afin d'obtenir une opacité équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm (10^8 UFC/ml).

➤ **Ensemencement**

Un écouvillon stérile 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 (Oxoid) est déposé à l'aide d'une pince afin de s'assurer de son application. 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) et l'EUCAST (2017). La liste des antibiotiques testés est donnée dans le tableau ci-dessous :

Tableau N°II : Les antibiotiques testés et leurs abréviations.

Familles	Antibiotiques	Abréviations	Charge du disque (µg)
β-lactamines	Pénicillines		
	Amoxicilline-Clavulanique	AMC	20/10
	Carbapénèmes		
	Imipenème	IPM	10
	Méropénème	MEM	10
	Céphalosporines		
	Ceftiofure	EFT	30
	Céfépime	FEP	30
	Céfoxitine	FOX	30
Polymyxines	Colistine	CT	10
Aminosides	Amikacine	AK	30
	Gentamicine	GN	10
Fluoroquinolones	Enrofloxacin	ENR	05
Quinolones	Fluméquine	UB	30

II.6. Recherche de β-lactamases à Spectre Etendu (BLSE)

II.6.1. DD- test (Test de synergie) :

La production d'une β-lactamase à spectre élargi est détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer des disques de céphalosporine de troisième génération (ceftiofure) et de quatrième génération (céfépime) (30 µg chacun) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline/clavulanate) (20/10 µg). 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).

II.6.2. 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 naturellement 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 la gélose Mueller Hinton additionnée de la cloxacilline (250 µg/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).

II.7. Détermination de certains traits de virulence

II.7.1. Fixation au Rouge de Congo

Pour évaluer la fixation du Rouge Congo, Une colonie pure de chaque souche est prélevée à l'aide d'un cure-dent stérile puis déposée sur gélose Miller Hinton additionnée de Rouge Congo à 0,02%, puis incubée pendant 24 heures à trois différentes températures : 37°C, 44°C et à la température ambiante (30°C). Les colonies positives apparaissent rouges, tandis que les colonies négatives semblent pâles (Dgrh, 2011).

II.7.2. Test d'hémagglutination :

Le test d'hémagglutination est réalisé dans une microplaque de 96 puits à fond rond (U). Pour ce faire, un volume de 50 µl d'une culture bactérienne d'une nuit 37°C est ajouté à 50 µl érythrocytes du sang du mouton à 3% dans le PBS seul ou dans le PBS contenant 4% de D-mannose. Après un quart d'heure, si le sang est diffusé dans la totalité du puits, le résultat est considéré positif et si c'est un point qui se forme au fond du puits, le résultat est négatif (Colin, 2008).

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Echantillonnage

Le prélèvement a concerné uniquement la coquille des œufs et est effectué par la technique d'écrasement. La répartition graphique des fermes collectées de la wilaya de Bejaia et le nombre de prélèvements par ferme sont présentés dans le tableau et la figure ci-dessous :

Tableau N°III : Répartition des échantillons par région graphique de la wilaya de Bejaia.

N° du prélèvement	Lieu du prélèvement	Nombre d'œufs
01	Adekar	30
02	Riquet (Akbou)	28
03	Beni ksila	25
04	Ighilali	28
05	Timezrit	29
06	Tazmalt	28
07	Assif el hemmam (Adekar)	30
08	Semaoun	30
09	Akbou	40
10	Baccaro	40

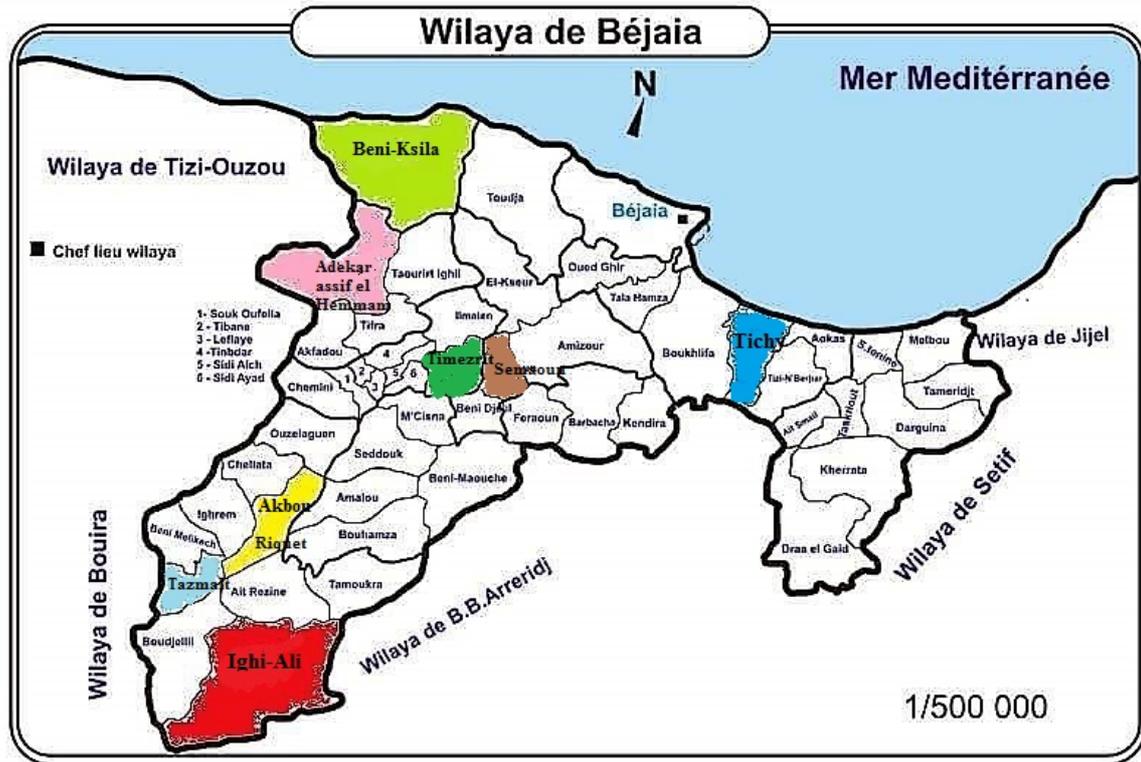


Figure N°2 : Carte représentant la répartition des échantillons par région graphique de la wilaya de Béjaia.

III.1.2. Isolement de souches d'entérobactéries résistantes aux C3G

Sur le nombre total des œufs analysés, seulement 3 œufs provenant de la ferme 5 et 8 étaient positifs pour la présence des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (ceftiofure). La prévalence totale de la résistance au ceftiofure parmi les souches d'entérobactéries, dans les œufs de consommation, est donc de 0.65% (2/308).

Les résultats d'identification ont révélé trois souches d'*E. cloacae*.

III.1.3. Recherche de β -lactamases à spectre élargie (BLSE) par DD-test

A. DD-test (test de synergie)

La recherche de BLSE parmi les souches d'entérobactéries résistantes aux ceftiofure a révélé que les trois souches sont productrices de BLSE (présence d'image de synergie). La figure N°03 illustre un DD-test positif chez la souche d'*E. cloacae* F8C4 'CR'.



Figure N°03: Résultats d'un DD-test positif.

Les résultats du DD-test ainsi que les profils de résistance aux β -lactamines, des souches résistantes (ou intermédiaire) au ceftiofure, sont montrés dans le tableau N° IV.

Tableau N° IV: Tableau récapitulatif des profils de résistance aux β -lactamines des souches d'entérobactéries résistantes au ceftiofure.

Code	Identification	AMC	EFT	FEP	FOX	BLSE
F5C3,C3	<i>E. cloacae</i>	R	R	S	R	+
F5C3,C4	<i>E. cloacae</i>	R	I	S	R	+
F8C4,CR	<i>E. cloacae</i>	R	R	S	R	+

Il est à noter que les trois souches d'entérobactéries résistantes au ceftiofure sont sensibles aux céphalosporines de quatrième génération (céfépime).

B.DD-Test sur gélose à la cloxacilline

Les souches d'entérobactéries résistantes à la céfoxitine sont testées sur gélose de Mueller Hinton additionnée de la cloxacilline à 250 μ g/ml. Les souches ayant présenté une récupération dans les diamètres des zones d'inhibition d'au moins 6 mm sont considérés des souches hyper productrices de céphalosporinases chromosomiques. Le résumé de DD-test sur gélose à la cloxacilline est représenté par le tableau V.

Tableau N°V : 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	
F5C3,C3	10	R	28	S	13	R	6	R	12	R	32	S	25	S	14	R
F5C3,C4	15	R	24	S	18	I	11	R	12	R	31	S	24	S	18	R
F8C4,CR	6	R	22	S	10	R	6	R	14	R	35	S	27	S	15	R

D'après les résultats du test à la cloxacilline, les trois souches d'*E. cloacae* ont présenté une récupération de 6 mm ou plus dans le diamètre de la zone d'inhibition pour le ceftiofure et avec absence de production de BLSE (absence de synergie). Ces souches sont donc hyper-productrices d'une céphalosporinase (case) chromosomique (ou plasmidique).

III.1.4. Résistance aux autres familles d'antibiotiques des entérobactéries résistantes au ceftiofure

Les souches d'entérobactéries résistantes (ou intermédiaires) au ceftiofure ont présenté une sensibilité 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 ceftiofure vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques.

Tableau N° VI: Profils de résistance des souches d'entérobactéries résistantes au ceftiofure aux autres familles d'antibiotiques.

Code	Identification	ENR	UB	CT	AK
F5C3, C3	<i>E. cloacae</i>	S	S	S	S
F5C3, C4	<i>E. cloacae</i>	S	S	S	S
F8C4, CR	<i>E. cloacae</i>	S	/	S	S

D'après le tableau dessus, il est remarquable que toutes les souches d'entérobactéries, résistantes au ceftiofure sont sensibles aux antibiotiques des autres familles. Sur le nombre total des œufs dépistés, aucune souche d'entérobactérie n'est résistante aux carbapénèmes (méro-pénème et imipénème).

III.1.5. Les tests de virulence effectués sur les souches résistantes au ceftiofure

A. Le test de fixation du rouge de Congo

La révélation de curli dans les souches résistantes au ceftiofure sur gélose au Rouge de Congo a montré des résultats positifs et d'autres négatifs à différentes températures. Les résultats sont représentés dans le tableau VII et illustrés dans les figures ci-dessous :

Tableau N°VII : Les résultats du test de fixation du Rouge de Congo.

Souche	RC à T.A (30°C)	RC à 37C°	RC à 44C°
F5C3.C3	+	++	-
F5C3.C4	-	++	-
F8C4.CR	-	+	-

RC : Rouge de Congo. T.A : Température Ambiante.

Seulement la souche F5C3.C3 qui a fixé le Rouge de Congo à la température ambiante parmi les souches résistantes au ceftiofure ; c'est-à-dire productrice de curli même à température ambiante. A 37C° le test est positif pour les trois souches ; toutes les souches sont productrices de curli mais à un niveau faible pour F8C4.CR par rapport à F5C3.C3 et F5C3.C4. Par contre à 44C° le test est négatif pour toutes les souches ; donc aucune des souches résistantes au ceftiofure n'est productrice de curli à 44C°.

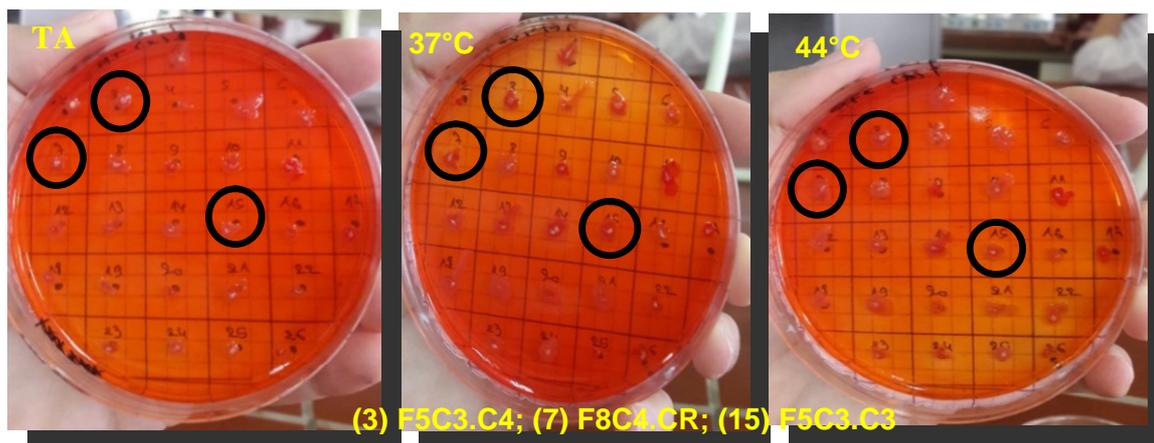
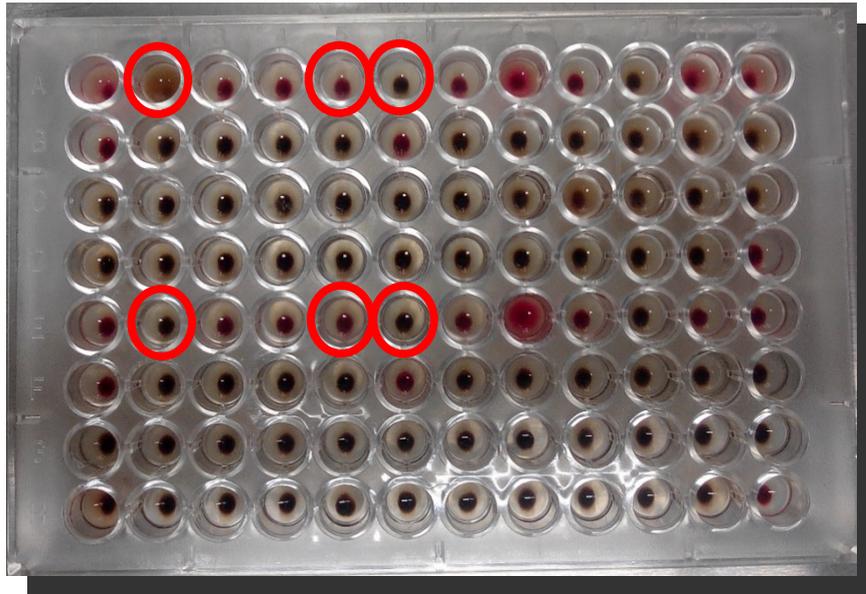


Figure N°4 : Images représentantes des résultats du test de fixation de Rouge de Congo à différentes températures (TA, 37°C, 44°C).

B. Le test d'hémagglutination :

Les érythrocytes se sont sédimentées en bouton au fond des puits de la microplaque mais elles ne se sont pas agglutinées, donc le test d'hémagglutination est négatif pour les trois souches résistantes au ceftiofure. Et aucune n'est productrice de fimbriae (sensibles / résistantes au D-mannose). Les résultats sont représentés dans la figure ci-dessous :



A2; E2: F8C4, CR. A5; E5: F5C3, C3. A6; E6: F5C3, C4

Figure N°5 : Image représentant les résultats du test d'hémagglutination.

III.2. Discussion

La résistance aux antibiotiques est rapportée à travers le monde entier dans les denrées alimentaires d'origine aviaire telle que la viande du poulet (Kola et *al.*, 2012), les œufs de consommation et les ovoproduits (Ashish et Rajesh, 2017). Néanmoins, peu d'études ont signalé la résistance antimicrobienne chez les bactéries isolées à partir de coquilles d'œufs, en particulier *Salmonella* et *Escherichia coli* (Musgrove et *al.*, 2006). En Algérie, le suivi de l'évolution de la résistance aux antibiotiques, particulièrement les bactéries productrices de BLSE, dans les œufs de consommation n'est pris en charge par aucun organisme officiel.

Durant le présent travail, 308 œufs de consommation sont inclus dans l'étude de la résistance aux antibiotiques et la recherche des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (ceftiofure).

Les micro-organismes peuvent contaminer les œufs à différents stades (De Reu et *al.*, 2006) ; une prédominance d'*E.coli* ($5,5.10^4$ UFC/œuf) a été observée sur les coquilles par De Reu et *al* en 2006 (Citée par Baron et Jan, 2010). Cependant, aucune souche d'*E. coli* résistante au ceftiofure n'est isolée des œufs étudiés dans la présente. Un résultat similaire est rapporté par Mezhoud et *al.* (2016) où aucune souche d'*E. coli* n'est rapportée résistante aux C3G, sur 186 échantillons d'œufs de couvoir. Des études antérieures ont rapporté que les souches d'*E. coli* isolées des œufs de consommation sont sensibles aux C3G (Musgrove et *al.*, 2006). Egea et *al.* (2011) rapportent, dans leur étude, aucune souche productrice de BLSE n'est isolée à partir de la coquille des œufs de consommation. En revanche, en Algérie, le travail effectué par Hamadi et Hamidouche en 2015 sur 180 œufs du marché, ont rapporté deux souches d'*E. coli* résistantes aux C3G.

La résistance aux C3G, n'est observée que chez trois souches d'*Enterobacter cloacae*, soit une prévalence de 0.65% (2/308). Cette prévalence est nettement faible comparée à celle observée chez les poules pondeuses de ces œufs qui est de 8.1% (26/320) (Résultats du travail de Harrouanine et Menasria, 2017). Elle est aussi faible à celle rapportée des souches d'entérobactéries isolées à partir des œufs du marché dans la willaya de Bejaia qui était de 3.3% (6/180) (Hamadi et Hamidouche, 2015).

Ces souches d'*Enterobacter cloacae* résistantes aux C3G restent sensibles à tous les autres antibiotiques testés. Ces résultats corroborent majoritairement avec plusieurs travaux antérieurs qui ont rapporté une résistance pour les β -lactamines, et une sensibilité à la gentamicine et aux quinolones dans les œufs de table (Ashish et Rajesh, 2017), ce n'est pas vraiment surprenant vu que la sensibilité à ces molécules est déjà rapportée chez le poulet de chair (Kola et al., 2012) et chez les poules pondeuses (Van Hoorebeke et al., 2011).

La contamination bactérienne de l'œuf pourrait se produire en passant par le cloaque, ou immédiatement après ponte, durant les 30 à 60 secondes suivantes, par l'environnement avant que la cuticule durcisse et close efficacement les pores de la coquille (Montgomery et al., 1999). En effet, plusieurs études ont démontré la transmission verticale des bactéries dans la pyramide de la chaîne de production aviaire (Dierikx et al., 2013 ; Zurfluh et al., 2014). Nonobstant, les résultats de notre travail montrent que les œufs collectés au niveau des fermes sont moins contaminés par rapport aux poules pondeuses et par rapport aux œufs du marché. En plus, aucune souche d'*Enterobacter cloacae* n'a été identifiée parmi les bactéries isolées des prélèvements cloacaux (Travaux de Harrouanine et Menasria, 2017). En effet, à l'oviposition, chez la poule saine, les œufs ne se contaminent que rarement par les matières fécales (Agulles, 2014). Après ponte, ils peuvent se contaminer par l'environnement de la ferme ou durant leur traitement (De Buck et al., 2004). Nos résultats, indiquent alors que les fermes incluses dans ce travail sont de bonne qualité d'hygiène et que les œufs du marché sont probablement contaminés pendant le transport et le stockage.

Le mécanisme de résistance au ceftiofure des souches d'*Enterobacter cloacae* rapportées par le présent travail pourrait être une association entre une production de BLSE avec une hyperproduction d'une AmpC chromosomique constitutive ou plasmidique. En effet, l'*AmpC* est naturellement présente chez *Enterobacter cloacae*, elle confère une résistance aux céphalothine, céfazoline, céfoxitine, et la plupart des pénicillines, et aux inhibiteurs de β -lactamases. Les AmpCs chromosomiques sont inductibles, néanmoins elles peuvent être exprimées à de très hauts niveaux (constitutives) suite à des mutations au niveau du gène *ampD*, la surexpression du AmpC chromosomique confère une résistance aux C3G (Negri et Baquero, 1998 ; Jacoby, 2009). Chez cette espèce, les AmpCs plasmidiques, telle que CMY, peuvent également conférer une résistance aux C3G. La

distinction phénotypique entre AmpC hyperproduite et plasmidique est impossible en pratique (Philippon et Arlet, 2006). Les BLSE ne peuvent être que plasmidiques chez cette espèce, et plusieurs types de BLSE ont été rapportées chez elle (Hoffmann et *al.*, 2006).

La présence de bactéries résistantes aux antibiotiques à la surface des œufs de consommation pourrait être dangereux pour la santé humaine *via* leur consommation ou de leurs produits notamment si les conditions de transport et de stockage ne sont pas adéquates.

Références bibliographiques

Conclusion

Notre étude est menée dans le but d'évaluer le taux de résistance aux antibiotiques et de chercher des souches d'entérobactéries résistantes au ceftiofure par production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) ou des AmpCs dans les œufs de consommation.

Les résultats du présent travail ont révélé trois souches d'*Enterobacter cloacae* résistantes au ceftiofure par production de céphalosporinases chromosomiques ou plasmidiques associées ou non à des BLSE, sur le nombre total de 308 œufs prélevés à partir de dix fermes différentes au niveau de la wilaya de Bejaia, ce qui fait une prévalence de 0.97%. Ces souches, néanmoins, restent sensibles à la céphalosporine de 4^{ème} génération (céfépime), les carbapénèmes (imipénème et méropénème) et d'autres familles d'antibiotiques testées : les quinolones (fluméquine), fluoroquinolones (enrofloxacin), polymyxines (colistine) et les aminosides (amikacine et gentamicine).

Ce taux faible de résistance aux C3G ne va tout de même pas écarter le risque des bactéries résistantes aux antibiotiques contenues dans les œufs pour la santé publique, surtout en Algérie, où les œufs ne subissent aucune désinfection avant leur vente.

Il est d'une importance majeure de sensibiliser les éleveurs ainsi que les vétérinaires praticiens pour une utilisation légale et prudente des antibiotiques dans les élevages afin de contrôler davantage l'émergence de la résistance aux antibiotiques.

Ces résultats restent préliminaires pour d'autres travaux, à savoir :

- ✓ Une étude plus élargie dans l'espace et dans le temps.
- ✓ Etudier les profils de résistance aux antibiotiques des autres bactéries contaminant les œufs.
- ✓ Faire une étude sur les œufs de consommation à différentes stades, de la ponte jusqu'à la consommation, afin de préciser le niveau de contamination.

Conclusion

- Adesiyun, A., Offiah, N., Seepersadsingh, N., Rodrigo, S., Lashley, V., Musai, L., & Georges, K. (2005).** Microbial health risk posed by table eggs in Trinidad. *Epidemiology and Infection*, 133(6), 1049. <https://doi.org/10.1017/S0950268805004565>
- Agunos, A., Carson, C., & Léger, D. (2013).** Review article compte rendu: Antimicrobial therapy of selected diseases in turkeys, laying hens, and minor poultry species in Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 54(11), 1041–1052.
- Allen, K. J., & Griffiths, M. W. (2001).** Use of Luminescent *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 To Assess Egg shell Colonization and Penetration in Fresh and Retail Eggs, 64(12), 2058–2062.
- Arsène Apata ; Paul Attien ; Gnamien S. Traore ; Haziz Sina ; Lamine Baba-Moussa ; Rose Koffi Nevrey. (2016).** Résistance antimicrobienne des souches pathogènes potentielles isolées des œufs produits par les fermes informelles et vendues à Abidjan, Côte d'Ivoire. *Academic Journals*. Vol.10 (16), pp. 542-551
- Ashish KR, J & Rajesh, Y. (2017).** Study of Antibiotic Resistance in Bacteria, 8(1), 668–674.
- 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.
- Baron, F., & Jan, S. (2010).** Microbiologie de l'oeuf et des ovoproduits. *Productions Animales*, 23(2), 193–204.
- Behira B. (2012).** Contribution à l'étude des espèces de lactobacilles à caractère probiotique 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.
- Bywater, R. J. (2005).** Identification and surveillance of antimicrobial resistance dissemination in animal production. *Poultry Science*, 84(4), 644–648. <https://doi.org/10.1093/ps/84.4.644>

Collignon, P., Aarestrup, F. M., Irwin, R., & McEwen, S. (2013). Human deaths and third-generation cephalosporin use in poultry, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 19(8), 1339–1340. <https://doi.org/10.3201/eid1908.120681>

De Buck, J., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2004). Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *Journal of Applied Microbiology*, 97(2), 233–245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02294.x>

De Reu, K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., & Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *International Journal of Food Microbiology*, 112(3), 253–260.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfo odmicro.2006.04.011>

Dgrh, S. (2011). Jean Figarella.

http://cache.media.education.gouv.fr/file/cpeext/26/3/cpeext_185263.pdf

Dierikx, C. M., Van Der Goot, J. A., Smith, H. E., Kant, A., & Mevius, D. J. (2013). Presence of ESBL/AmpC -producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: A descriptive study. *PLoS ONE*, 8(11).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079005>

Egea, P., López-Cerero, L., Navarro, M. D., Rodríguez-Bano, J., & Pascual, A. (2011). Assessment of the presence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in eggshells and ready-to-eat products. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 30(9), 1045–1047.

<https://doi.org/10.1007/s10096-011-1168-3>

European Food Safety Authority (EFSA), 2009: Joint opinion on antimicrobial resistance (AMR) focused on zoonotic infections. *EFSA J.* 7, 1372.

FAO/WHO/OIE, 2008: Joint FAO/OIE/WHO expert meeting on critically important antimicrobials. Report of a meeting held in FAO, Rome, Italy, November 2007, Geneva, Switzerland.

http://www.who.int/foodborne_disease/resources/Report_CIA_Meeting.pdf

Fish, P., Sci, W., & Agulles, T. M. (2014). Poultry , Fisheries & Wildlife Sciences How Egg Quality Impacts the Health of Day-One-Chicks ?, 2(2), 2–4.

<https://doi.org/10.4172/2375-Page>

Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Gast, R., Humphrey, T. J., & Van Immerseel, F. (2009). Mechanisms of egg contamination by *Salmonella Enteritidis*: Review article. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(4), 718–738.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00161.x>

Giraud-Morin, C., & Fosse, T. (2008). l'évolution récente et caractérisation des entérobactéries productrices de BLSE au CHU de Nice (2005-2007). *Pathologie Biologie*, 56(7–8), 417–423. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2008.07.003>

Grande Burgos, M. J., Fernández Márquez, M. L., Pérez Pulido, R., Gálvez, A., & Lucas López, R. (2016). Virulence factors and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from hen egg shells. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.037>.

Gillespie, J.R. (1992). Poultry. In: *Modern Livestock and Poultry Production*. 4th ed. Delmar Publishers Inc., USA. p591-655. citée par (Okorie-Kanu, Ezenduka, Okorie-Kanu, Ugwu, & Nnamani, 2016).

Gyles, C. L. (2008). Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry. *Animal Health Research Reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases*, 9(2), 149–158. <https://doi.org/10.1017/S1466252308001552>

Haines, B. Y. E. B. (1937). Observations on the bacterial flora of the hen's egg , with a description of new species of proteus and pseudomonas causing rots in eggs.

Hamadi F., Hamidouche T. (2015). Recherche des souches d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques isolées des œufs de consommation dans la Wilaya de Bejaia, 10p.

Hoffmann, H., Sturenburg, E., Heesemann, J., & Roggenkamp, A. (2006). Prevalence of extended-spectrum β -lactamases in isolates of the *Enterobacter cloacae* complex from German hospitals. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(4), 322–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01360.x>

Hur, J., Jawale, C., & Lee, J. H. (2012). Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Research International*, 45(2), 819–830. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.014>

Jacoby, G. A. (2009). AmpC -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 161–182. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>

Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility patterns. *Clinical Infectious Diseases*, 10(4), 867–878.

<https://doi.org/10.1093/clinids/10.4.867>

Jones, D. R., Musgrove, M. T., & Northcutt, J. K. (2004). Variations in external and internal microbial populations in shell eggs during extended storage. *Journal of Food Protection*, 67(12), 2657–60.

Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15633667>

Kola, A., Kohler, C., Pfeifer, Y., Schwab, F., Kühn, K., Schulz, K., ... Steinmetz, I. (2012). High prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in organic and conventional retail chicken meat, Germany. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(11), 2631–2634. <https://doi.org/10.1093/jac/dks295>

Li-chan, E.C.Y., Powrie, W.D. and Nakai, S. (1995). The chemistry of eggs and egg products. In: *Egg Science and Technology*, 4th Edition (Stadelman, W.J. and Cotterill, O.J. Eds). Food Products. New York. p 548, p 549.

Lepelletier D, Batard E, Berthelot P, Zahar JR, Lucet JC, Fournier S, Jarlier V, Grandbastien B. (2015). Carbapenemase-producing enterobacteria: epidemiology, strategies to control their spread and issues.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25600328>

Mayes, F. J., & Takeballi, M. A. (1983). Microbial contamination of the hen's egg: a review. *Journal of Food Protection*{®}, 46(12), 1091–1098. [https://doi.org/Cited By \(since 1996\) 53\rExport Date 2 April 2013](https://doi.org/Cited%20By%20(since%201996)%2053%20Export%20Date%202%20April%202013)

Messens, W., Grijspeerdt, K., & Herman, L. (2005). Eggshell characteristics and penetration by *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* through the production period of a layer flock, 46(6), 694–700. <https://doi.org/10.1080/00071660500395582>

Mezhoud, H., Chantziaras, I., Iguer-Ouada, M., Moula, N., Garmyn, A., Martel, A., ... Boyen, F. (2016). Presence of antimicrobial resistance in coliform bacteria from hatching broiler eggs with emphasis on ESBL/AmpC-producing bacteria. *Avian Pathology : Journal of the W.V.P.A.*, 9457(July), 1–30.

<https://doi.org/10.1080/03079457.2016.1167837>

- Mine, Y. (2002).** Recent advances in egg protein functionality in the food system, 58(March).
- Montgomery, R. D., Boyle, C. R., Lenarduzzi, T. a, & Jones, L. S. (1999).** Consequences to chicks hatched from *Escherichia coli* inoculated embryos. *Avian Diseases*, 43(3), 553–63. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10494427>
- Musgrove, M. T., Jones, D. R., Northcutt, J. K., Cox, N. A., Harrison, M. A., Fedorka-Cray, P. J., & Ladely, S. R. (2006).** Antimicrobial resistance in Salmonella and *Escherichia coli* isolated from commercial shell eggs. *Poultry Science*, 85(9), 1665–1669. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1997.tb15713.x>
- Nathier-Dufour Nathalie. (2005).** Les œufs et les ovoproduits. Laurence Auden et Verrier. ed: educagri editions, Dijon. PP 17-30.
- Negri, M.-C., & Baquero, F. (1998).** In vitro selective concentrations of cefepime and ceftazidime for AmpC beta-lactamase hyperproducer *Enterobacter cloacae* variants. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 4(10), 585–588. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1999.tb00721.x>
- Pfeifer, Y., Cullik, A., & Witte, W. (2010).** International Journal of Medical Microbiology Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *International Journal of Medical Microbiology*, 300 (6), 371–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.04.005>
- Philippon, A., & Arlet, G. (2006).** [Beta-lactamases of Gram negative bacteria: never-ending clockwork]. *Annales de Biologie Clinique*, 64(1), 37–51. Retrieved from http://www.jle.com/download/abc-267512_lactamases_de_bacilles_a_gram_negatif_le_mouvement_perpetuel_--WUAky38AAQEAAFFnQekAAAAE-a.pdf
- Rasheed, M. U., Thajuddin, N., Ahamed, P., Teklemariam, Z., & Jamil, K. (2014).** ANTIMICROBIAL DRUG RESISTANCE IN STRAINS OF *Escherichia coli* ISOLATED FROM FOOD SOURCES. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 56(4), 341–346. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000400012>

Reu, K. De, Messens, W., Grijspeerdt, K., Heyndrickx, M., Rodenburg, B., Uyttendaele, M., & Herman, L. (2008). Bacterial contamination of hen ' s table eggs and its influencing by housing systems, 1–8.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0043933907001687>

Sabaté, M., Prats, G., Moreno, E., Ballesté, E., Blanch, A. R., & Andreu, A. (2008). Virulence and antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from human and animal wastewater. *Research in Microbiology*, 159(4), 288–293.

<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.02.001>

Schwaiger, K., Schmied, E. M. V, & Bauer, J. (2010). Comparative analysis on antibiotic resistance characteristics of *listeria spp.* and *enterococcus spp.* isolated from laying hens and eggs in conventional and organic keeping systems in Bavaria, Germany. *Zoonoses and Public Health*, 57(3), 171–180.

<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01229.x>

Suresh, T., Hatha, A. A. M., Sreenivasan, D., Sangeetha, N., & Lashmanaperumalsamy, P. (2006). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella enteritidis* and other salmonellas in the eggs and egg-storing trays from retails markets of Coimbatore, South India. *Food Microbiology*, 23(3), 294–299.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.04.001>

Van hoorebeke, S., Van immerseel, F., Berge, A. C., Persoons, D., Schulz, J., Hartung, J., ... Dewulf, J. (2011). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* in housed laying-hen flocks in Europe. *Epidemiology and Infection*, 139(10), 1610–1620.

<https://doi.org/10.1017/S0950268810002700>

V, U. P., & Colin, Y. (2008). Travaux pratiques d ' immunologie Licence des Sciences du Vivant L3 Bâtiment de l ' Horloge Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques 4 , avenue de l ' Observatoire.

http://phoenixg.free.fr/Autre/bouh/TP_L3_Immuno_POLY_Colin-Aldaz-Dangles_2008-09.pdf

Watkins, B. (1995). The nutritive value of the egg. In: Egg Science and Technology, 4th Edition (Stadelman, W.J. and Cotterill, O.J. Eds), Food Products, New York, pp177-194.

Zdrojewicz, Z., Herman, M., & Starostecka, E. (2016). Jajo kurze jako źródło cennych substancji biologicznie czynnych Hen ' s egg as a source of valuable biologically active substances, 751–759.

<https://doi.org/10.5604/17322693.1208892>

Résumé

L'objectif du présent travail est de cribler la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les œufs de consommation. Pour cela, 308 œufs de consommation sont collectés à partir de dix différentes fermes au niveau de la wilaya de Bejaia. Les échantillons des coquilles d'œufs écrasées sontensemencés sur le MacConkey additionné du ceftiofure afin d'isoler les entérobactéries résistantes. Trois souches d'*Enterobacter cloacae* résistantes au ceftiofure (0,65%) sont isolées. Les mécanismes responsables de cette résistance, révélés par le test de synergie sur gélose Mueller Hinton en présence et en absence de la cloxacilline, sont la production d'une AmpCs et d'une BLSE. Ces souches restent sensibles à d'autres molécules testées. Les œufs de consommation dans la région de Bejaia contiennent une faible prévalence de bactéries résistantes au ceftiofure.

Mots clés: œufs, ceftiofure, entérobactéries, BLSE/AmpC.

Summary

The aim of this work was to screen the presence of antibiotic-resistant bacteria in table eggs. For this purpose, 308 eggs were collected from ten different farms in Bejaia. Samples of crushed egg shells were seeded on MacConkey with ceftiofur in order to isolate resistant enterobacteria. Three strains of *Enterobacter cloacae* resistant to ceftiofur (0.65%) were isolated. The mechanisms responsible of this resistance, revealed by the synergistic test on Mueller Hinton agar in the presence and absence of cloxacillin, were the production of AmpCs and ESBL. These strains remain sensitive to other molecules tested. Table eggs in Bejaia contain a low prevalence of bacteria resistant to ceftiofur.

Keywords: eggs, ceftiofur, enterobacteria, ESBL/AmpC.