

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme

d'Ingénieur d'Etat

Option : Génie Biologique

Thème

*Etude du portage digestif des souches
d'entérobactéries productrices de
BLSE chez le poulet de chair*

Présenté par :

M^{lle} MOULOUDI Zahra

M^{lle} ZEMMOURA Assia

Membres de Jury

Présidente : M^{lle} TAFOUKI R. (M.A.B)

Promotrice : M^{me} BELHADI K. (M.A.A)

CO- Promoteur: M^r BELMAHDI M. (M.A.A)

Examinatrice : M^{me} MESSAOUDI K. (M.C.B.)

2013-2014

Remerciements

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

Nous remercions M^{elle} TAFOUKT R, et M^{me} MESSAOUDI K qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.

Nous adressons nous plus sincères remerciements à notre promotrice M^{me} BELHADI K, de nous avoir encadrés.

Nos vifs remerciements s'adressent à notre Co-promoteur M^r BELMAHDI M. pour ses précieux conseils et son encouragement. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles.

Nous exprimons également notre gratitude à M^r BAKOUR pour son aide et ses conseils, ainsi que pour le temps qu'il nous a consacré dans notre travail.

Nous tenons également à remercier toute l'équipe de M^r TOUATI.

En fin, nous remercions à travers ce travail tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin de cycle.



Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie:

A Mes très chers parents qui m'ont toujours soutenu et encouragé tout au long de mon parcours d'études. C'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect.

A mes chères soeurs Aicha et Lila.

A mes chers frères Massi, Mami et mon adorable chouchou.

A Salah de leur soutien moral et leur encouragement permanents au cour des études.

A Ma copine SADIKA à qui je souhaite une vie pleine de joie et de réussite.

A ma copine ASSIA à qui je souhaite toute la réussite.

A tous ceux qui nous ont aidés pour la réalisation de notre projet.

A toute la promotion de Génie biologique.

Zahra





Dédicaces

Aux deux êtres qui me sont les plus chers au monde ma mère et mon père qui ont la patience de nous élever et nous enseigner, et pour leurs sacrifices dans le but de nous conférer une meilleure vie, auxquels j'exprime ma profonde gratitude.

A mes adorables frères AHMED et AISSA et SMAIL auxquels je souhaite beaucoup de réussite.

A mes très chères sœurs (NACERA et ZOULIKHA) et leurs maris ;

A mes anges ZOÛRA et IMANE.

A mes neveux (SAMI, ANIS, CHERIF et YAAKOUB) et mes nièces (KHADIDJA et YASMINE)

A toute ma famille.

A mes biens aimés (NASSIMA, FATIHA, ZOÛRA, YAMINA et LYNDIA)

A mon aimable binôme ZAHRA et sa famille.

A toute la promotion de Génie biologique (2013-2014).

A tous ceux qui m'aiment et qui m'ont encouragé.

Assia



Liste des abréviations

A.F.S.S.A	Agence Française de Sécurité Sanitaire Des Aliments
A.N.S.E.S	Agence Nationale de Sécurité, Environnement Sanitaire
AMC	Amoxiciline+Acide Clavulanique
AN	Acide nalidixique
BLSE	β -Lactamines à Spectre Elargi
C3G	Céphalosporines de 3 ^{eme} génération
C4G	Céphalosporines de 4 ^{eme} génération
CAZ	Ceftazidime
CFA-SFM-vet	Comité Français de l'Antibiogramme vétérinaire de la Société Français Microbiologie
COT	Co-trimoxazole
CTX	Cefotaxime
GN	Gentamicine
M.A.D.R	Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
PIB	Produit international brute
R	Résistante

Résapath

Réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance
des bactéries pathogènes animales

S

Sensible

TE

Tetracycline

TOB

Tobramycine

Liste des figures

Figure 1: L'aspect des souches sur BCP	13
Figure 2: L'aspect des souches sur EMB	13
Figure 3: Résultat de test de synergie	13
Figure 4: Résultat du DD-TEST positif	15
Figure 5: Résultat du DD-TEST négatif	17

Liste des tableaux

Tableau I: La répartition de la flore intestinal de poulet de chair	2
Tableau II: L'origine des prélèvements	7
Tableau III: La répartition des prélèvements et des souches isolées	12
Tableau IV: Les résultats de la galerie biochimique	12
Tableau V: Les résultats de test de synergie positif	14
Tableau VI: Les résultats de test de synergie négatif	16
Tableau VII: La sensibilité des souches d' <i>E. coli</i> BLSE (+) aux antibiotiques	18
Tableau VIII: Les phénotypes de résistance des souches isolées	19

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Matériel et méthodes

I- Prélèvements 7

II- Isolement et purification 7

III- Identification biochimique 8

IV- Recherche de BLSE par le DD-TEST 10

V- Etude de la sensibilité aux autres familles d'antibiotiques 10

Résultats et discussion

I- Prélèvements, isolement et purification 12

II- Identification des souches 12

III- Test de synergie (DD-TEST) 13

IV- Test de sensibilité aux antibiotiques 17

V- Phénotypes de résistance 19

Conclusion 22

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

Introduction

La viande de volaille est la deuxième viande consommée au monde après le porc (Fouillade, 2010). L'évaluation des performances de l'élevage avicole et de reproduction de poulet de chair est importante. Durant les trois dernières décennies, la filière avicole algérienne a connu l'essor le plus spectaculaire parmi les productions animales. L'offre en viandes blanches est passée de 95000 à près de 300 000 tonnes entre 1980 et 2010 (M.A.D.R, 2011). Elle a atteint un stade de développement qui lui confère désormais une place de choix dans l'économie nationale en général (1,1% du PIB national) et dans l'économie agricole (12 % du Produit agricole brut) (Kaci et Cheriet, 2013).

En aviculture, la productivité, la rentabilité et la qualité des produits sont conditionnées par l'état sanitaire du cheptel (Drouin, 1988). L'aviculture algérienne a connu la présence des problèmes de performance des élevages notamment au niveau de la mortalité et l'allongement du cycle de production dû aux manque de maîtrise de l'alimentation et de prophylaxie. La comparaison entre les élevages avicoles privés algériens avec des données analogues pour la France, indiquent clairement le retard enregistré par la filière avicole nationale en termes de performances techniques de production (Kaci et Cheriet, 2013). (Voir l'annexe I)

Le poulet est un animal conventionnel qui est exposé à tous les microorganismes de l'environnement (GABRIEL *et al.*, (2005). L'écosystème digestif du poulet de chair contient un nombre considérable de bactéries phylogénétiquement et physiologiquement différents, assemblés dans différent micro habitats (Lybbey, 2000; Irène, 2003).

La colonisation du tube digestif débute dans le caecum, d'où les Entérocoque et les entérobactéries vont envahir la totalité du tractus digestif vingt-quatre heures après l'éclosion, trois jours après leur nombre diminuent (sauf dans le caecum) au profit des *Lactobacillus* qui deviennent largement majoritaires. L'installation de la flore normale dans le tractus digestif demande seulement deux semaines, alors qu'au niveau du caecum, elle demande plus de temps (Gournier-Château *et al.*, 1994). D'autres auteurs rapportent qu'il faut quatre à six semaines pour que la flore de caeca se stabilise (Gournier-Château *et al.*, 1994; Fuller, 2000). Cette microflore dépend de nombreux facteurs tels que: l'individu, son âge, son environnement et son alimentation (Gabriel *et al.*, 2007).

La flore intestinale est une composante majeure du tractus digestif, indispensable pour le maintien de l'homéostasie ceci est dû au fait de la capacité métabolique,

nutritionnelle des microorganismes anaérobies strictes ou certaines espèces anaérobies facultatifs d'une part, et d'autre part l'intervention efficace et régulée de la flore autochtone dans la protection contre les germes pathogènes (Ergun, 2003; Lam et al., 2005).

Tableau I: La répartition de la flore intestinale de poulet de chair

Les parties de l'intestin	La flore intestinale	Les facteurs qui influencent sur la répartition de la flore intestinale
Le jabot	Les lactobacilles Les entérocoques Les Coliformes Les Levures	Le pH acide (de 4 à 5) est dû à la présence de grandes quantités d'acide organiques qui sont produits par les <i>Lactobacillus</i> . Cette acidité empêche le développement des microorganismes non acidotolérants (Gournier-Château, 1994).
Le gésier	<i>Lactobacillus</i> Les entérocoques	Le pH est très acide, il est de 1 à 2 ce qui empêche le développement d'un grand nombre de bactéries (Gournier-Château et al., 1994; Duchatel, 2002).
Le duodénum	Les lactobacilles <i>Enterococcus hirae</i> <i>Clostridium perfringens</i> Les coliformes Les levures	Le pH est de 6 à 8 la présence des microorganismes est faible ceci n'est pas dû à l'acidité du milieu mais à la forte pression en oxygène et au transit important de nutriments nécessaires à la survie de ces bactéries, il y a une forte concentration en enzymes et en composés antimicrobiens tels que les sels biliaires qui limitent la croissance bactérienne (Gournier- Château, 1994; Fuller, 2000; Irène et al., 2003).
Le Jejunum et l'ilion	Les lactobacilles Les entérocoques Les coliformes	Le pH de jejunum est de 5.72 à 6. Le pH de l'ilion est de 5.83 à 6.18. À partir de là, l'environnement devient plus favorable à la croissance bactérienne grâce à la diminution de la pression

		d'oxygène et de la concentration en enzymes et sels biliaries. Mais par manque de substrats la croissance bactérienne devient limitée dans le cas d'ingestion d'aliments facilement digestibles (Duchatel, 2000; Fuller, 2000).
Le caecum	<p>Les anaérobies stricts: <i>Peptostréptococcus</i> <i>Bactéroïdes</i> <i>Eubacterium</i> <i>Clostridium</i> <i>bifidobacterium</i></p> <p>anaérobies facultatives: Les <i>E. coli</i>, <i>Citobacter</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Protéus</i> et <i>Klebsiella</i>.</p>	Le pH est de 5,7 à 6,9, cette partie est très riche en microorganismes en effet le contenu de cette partie étant rarement renouvelé (1à 2 fois/ jour) et l'originalité morphologique et fonctionnelle de l'intestin réside dans le cæcum qu'il intervient dans l'équilibre hydrominéral (Irène, 2003; Leeson et Zubair, 2004).

L'évolution de l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire a considérablement amélioré l'état sanitaire des animaux (Pergini et *al.*, 2005), les antibiotiques sont couramment utilisés à des fins thérapeutiques, prophylactiques et zootechniques (Tatsadjieu Ngoune et *al.*, 2009). (Voir l'annexe II)

Parmi les antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire on distingue les β -lactamines (Chevalier et *al.*, 2012) qui constituent l'un des groupes les plus importants en raison de la diversité des molécules qui le composent, de leurs efficacité et leurs faible toxicité (Cavallo et *al.*, 2004). L'utilisation massive des β -lactamines exerce une pression de sélection des bactéries résistantes et l'augmentation de leurs multi résistances (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006) qui aussi important dans la filière avicole où la proportion de souches résistantes est passée de 7 % en 2008 à 22 % en 2010 (Madec et *al.*, 2012).

Les entérobactéries sont largement répandue dans l'environnement (sol, végétaux....) et dans l'intestin de l'Homme et les animaux (Joly et Reynaud, 2002) fréquemment impliquées dans les infections tant communautaire, qu'acquises dans les

milieux de soins (Beaudreau et *al.*, 2010). L'apparition de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième et quatrième générations (C3G/C4G) constitue probablement l'un des faits les plus marquants des deux dernières décennies en matière d'antibiorésistance humaine et animale (Madec et *al.*, 2012). Elle devient une préoccupation de plus en plus dans le monde médical. Les premières entérobactéries produisant des BLSE sont apparues en Europe décrites en milieu hospitalier (Beaudreau et *al.*, 2010).

Cette résistance est principalement assurée par la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et de céphalosporinases plasmidiques (AmpC), ces enzymes confèrent une résistance élevée à la plupart des bêta-lactamines thérapeutiques (Madec et *al.*, 2012). Leurs gènes sont principalement localisés sur des plasmides (Madec et *al.*, 2012) qui favorisent leur émergence dans un premier temps puis leur dissémination par la suite (Chevalier et *al.*, 2012) au sein de populations d'animaux et également dans leurs environnements proches (A.F.S.S.A., 2006) (annexe III).

Chez l'animal, en Europe, la production d'enzymes de type BLSE ou AmpC a été décrite chez la plupart des entérobactéries d'importance clinique (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*,...). Néanmoins, chez *E. coli* les BLSE ont été le plus fréquemment décrites. En France, les premières souches d'*E. coli* animales productrices de BLSE ont été isolées depuis 2003 dans les trois principales filières de production (porcs, volaille et bovins). Elles ont été identifiées dans le cadre de l'activité du réseau Résapath, qui assure depuis 1982 la surveillance de l'antibiorésistance chez les bactéries pathogènes des animaux. Depuis lors, les taux de prévalence des résistances aux C3G/C4G sont en constante augmentation chez *E. coli* (Madec et *al.*, 2012).

La mise en place de programmes de surveillance de la résistance aux antibiotiques est indispensable (A.F.S.S.A., 2006). Les principaux enjeux de ces réseaux de surveillance concernent la détection des bactéries résistantes émergentes ainsi que le suivi de la diffusion de ces souches susceptibles d'être à l'origine d'échecs thérapeutiques (Philippon et *al.*, 2002; Lavigne et *al.*, 2007) et il permet de détecter de nouveaux événements à l'origine d'une alerte soit pour étudier les causes, soit dans un objectif de prévention des risques (A.F.S.S.A., 2006).

La surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries se fait au sein de la flore intestinale des animaux et peut être fondée sur plusieurs types d'approches permettant le recueil de différents indicateurs mesurés à différents niveaux de population animale (animaux, bandes ou lots, élevage, groupement, pays....) et dans différents secteurs de la chaîne de production alimentaire (alimentation animale, environnement, arrivée abattoir, environnement abattoir, atelier de transformation, produit brut et produit à la vente) (A.F.S.S.A, 2006).

Les laboratoires de l'A.N.S.E.S. en Europe s'appuient sur leur activité de surveillance, mènent une recherche sur l'antibiorésistance. Leurs travaux sont conduits seuls ou en partenariat avec des organismes extérieurs (Institut Pasteur, Ecoles Nationales Vétérinaires). Ils réalisent un système de surveillance de l'antibiorésistance dans le domaine vétérinaire. Les enquêtes et programmes de recherche sont plus ciblés sur une espèce animale (cheval, volailles), un antibiotique (céphalosporines de 3^{ème} génération) ou un microorganisme (*Mycoplasma*, *Campylobacter*, *Salmonella*) (Mortureux, 2012).

La résistance aux antibiotiques est considérée au niveau mondial comme un problème majeur en terme de santé humaine et animale. Actuellement à l'échelle mondiale les études de l'antibiorésistance n'est pas un phénomène nouveau, l'A.F.S.S.A a étudié l'apparition des bactéries résistantes aux antibiotiques, due à leurs utilisation en médecine vétérinaire et en alimentation animale, mais il n'existe encore aucun consensus sur la responsabilité exacte de l'utilisation des antibiotiques administrés aux animaux exemple: volailles. Cette situation a amené la recherche a développé des nouvelles stratégies et des études concernant la résistance bactérienne aux antibiotiques, telle que les β -lactamines par production de β -lactamase, pour une meilleure prise en charge thérapeutique, pour une mise en évidence de degré d'équilibre de la flore intestinale afin élaborer une stratégie de contrôle de la résistance aux antibiotiques. En Algérie le suivi de l'évolution de l'antibiorésistance chez les animaux n'est pas prise en charge par un organisme officiel. Aussi, il y a peu de travaux réalisés sur ce sujet. Quelques études sont publiées sur ce sujet à l'instar 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.

C'est dans ce contexte que s'établit notre objectif qui s'oriente vers l'étude du portage intestinal des Entérobactéries productrices de BLSE.

Pour cela, nous avons adopté la méthodologie suivante:

- Isolement et identification des souches bactériennes;
- Recherche de BLSE par le DD-TEST;
- L'étude de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis d'autres familles d'antibiotique.

Matériel

et

méthodes

Notre étude a été réalisée au laboratoire de Microbiologie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia, durant la période allant du 10 février au 14 mai 2014.

I-Prélèvements

Les prélèvements sont effectués de quatre abattoirs de béjaia et un abattoir de Constantine (Tableau II). Les échantillons de l'abattoir sont acheminés au laboratoire dans des sacs stériles dans une glacière. Pour chaque échantillon, nous avons effectué un prélèvement au niveau de l'intestin (caecum). Ce choix est due au fait que cette partie est très riche en microorganismes. En effet le reflux de l'urine dans le caecum (particularité anatomo-physiologique chez les oiseaux) permet l'utilisation de l'acide urique (représente 1% de l'urine) par un grand nombre des souches bactériennes (10^9 UFC/g du contenu caecal) (Cunningham, 1987; Gournier-Château et *al.*, 1994; Irène et *al.*,2003).

L'écouvillon est introduit dans les deux globes du caecum, il est ensuite introduit dans un bouillon nutritif pour l'enrichissement. Puis incubé à 37°C pendant 24h.

Tableau II: L'origine des prélèvements

L'origine de prélèvements	Le code	La date de prélèvements	Nombre des échantillons
Bejaia	BC	01/03/2014	8
		09/03/2014	7
		13/03/2014	15
Akbou	AC	25/03/2014	15
		20/04/2014	16
Souk El-ethnine	SEC	30/03/2014	3
		8/04/2014	4
		21/04/2014	16
Constantine	CC	03/04/2014	5
Feraoun	FC	02/04/2014	13

II-Isolement et Purification

Après l'incubation, on ensemence par stries sur une gélose BCP additionnée de ceftazidime (4µg/ml), puis on incube à 37°C pendant 24h.

Après incubation, les colonies présentant les caractéristiques des entérobactéries (la taille, la couleur, la forme) ont été repiquées sur la gélose EMB puis incubé à 37°C pendant 24h.

IV-Identification biochimique

L'identification des souches isolées est réalisée par quelques tests biochimiques comme suite:

1) Fermentation des sucres: (TSI)

A partir d'une suspension bactérienne nous avons ensemencé par stries la pente puis par piqûre centrale le culôt. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h. Le bouchon du tube ne doit pas être trop vissé (pour éviter l'accumulation du CO₂).

La fermentation de l'un des sucres contenu dans le milieu se traduit par une acidification et donc le virage au jaune du rouge de phénol.

La lecture est effectuée comme suit:

- Fermentation du lactose (+): virage au jaune de la pente.
- Fermentation du saccharose (+): virage au jaune au milieu de tube.
- Fermentation du glucose (+): virage au jaune au fond du tube.
- Production de CO₂ à partir du glucose se traduit par l'apparition de bulles ou d'une poche gazeuse qui décale la gélose du tube.
- Production d'H₂S se traduit par un précipité noir à la jonction de la pente et le culôt (Le Minor et Richard, 1993).

2) Test d'utilisation du mannitol et recherche de mobilité

L'étude de la mobilité et la dégradation du mannitol est effectuée sur le milieu Mannitol- mobilité. L'ensemencement du milieu est réalisé par une piqûre centrale à partir de la suspension bactérienne et incubation à 37°C pendant 24h.

La fermentation du mannitol se traduit par un virage du milieu au jaune. Si la souche est mobile, il apparaît une diffusion de part et d'autre de la piqûre centrale du culôt (Le Minor et Richard, 1993).

3) Utilisation du citrate (milieu citrate de Simmons)

Ce test permet l'étude de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone. Il est réalisé sur le milieu de citrate de Simmons.

L'ensemencement est réalisé par une strie longitudinale sur la pente. Ne pas visser le bouchon afin de permettre les échanges gazeux. Puis incubation à 37°C pendant 7 jours au maximum. L'utilisation du citrate se traduit par le virage du milieu au bleu et la poussée de colonies sur la pente (Le Minor et Richard, 1993).

4) Recherche la nitrate réductase (bouillon nitraté)

Après ensemencement d'un bouillon nitraté et incubation à 37°C pendant 24h. On ajoute quelques gouttes du réactif NRI et NRII respectivement puis on agite. Une nitrate réductase positive se manifeste par l'apparition d'une coloration rose-rouge. Si la réaction est négative, on ajoute une petite quantité de poudre de zinc au milieu incolore. S'il y a l'apparition d'une coloration rouge, la bactérie étudiée ne possède pas la nitrate réductase (Le Minor et Richard, 1993).

5) production d'indole

Ce test consiste à mettre en évidence la tryptophanase, à partir d'une suspension bactérienne on ensemence dans le milieu d'eau péptonée exempte d'indole. On incubation à 37°C pendant 24h. La production d'indole est révélée par l'addition de quelques gouttes du réactif de Kovacs au milieu.

Un anneau en surface rouge indique un test positif. (Le Minor et Richard, 1993).

6) Etude du type fermentaire

Chez les bactéries aérobies facultatives, la fermentation du glucose conduit à la production soit: de nombreux acides, par la voie des fermentations acides mixtes qui sont mis en évidence par le test RM (Rouge de méthyle) soit d'acétone produit par fermentation butane-diolique qui est mis en évidence par le test VP (Voges-proskauer).

Ces deux tests sont réalisés sur le milieu Clark et Lubs. On émulsionne quelques millilitres de ce milieu avec la suspension bactérienne puis on incubation à 37°C pendant 24h. Après l'incubation, on divise le contenu du milieu en deux tubes:

➤ **Réaction de VP (Voges-proskauer)**

On ajoute quelques gouttes de réactif VPI et après 15 minutes on ajoute le réactif VPII Une coloration rouge cerise indique une réaction de VP positive (Le Minor et Richard, 1993).

➤ **Réaction de RM (rouge de méthyle)**

On ajoute quelques gouttes de rouge de méthyle. Un virage au jaune indique une réaction de RM négative. Un virage au rouge indique une réaction RM positive (Le Minor et Richard, 1993).

V-Recherche de BLSE par le DD-test

On ensemence un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, on ensemence sur la totalité de la surface gélosée Mueller Hinton, en stries serrées, on répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, pour finir on passe l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. À l'aide d'une pince stérile on dépose les disques de ceftazidime (CAZ: 30 µg) et de céfotaxime (CTX: 30µg) à une distance de 20mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline-clavulanate) (20 µg /10 µg). Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18h. L'interprétation en Sensible (S), Intermédiaire (I) et Résistant (R) a été faite selon les critères définis par les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie vétérinaire (CFA-SFM-vet, 2013).

VI-Etude de la sensibilité aux autres familles d'antibiotiques

L'étude de la sensibilité des souches isolées productrices de BLSE, vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques est réalisée selon la méthode de diffusion sur gélose Muller-Hinton suivant les recommandations du (CFA-SFM-vet, 2013).

A Partir d'une suspension bactérienne on ensemence par écouvillonnage les boîtes de gélose Mueller Hinton. Les disques d'antibiotiques testés sont: Co-trimoxazole (COT: 25µg), Tobramycine (TOB: 10 µg), Gentamycine (GN: 10 µg), Acide nalidixique (AN: 30 µg), Tétracycline (TE: 30 µg). Les disques sont déposés sur la gélose préalablement ensemencée à l'aide d'une pince stérile. Après une incubation à 37°C pendant 24h, les diamètres des zones d'inhibition formées autour des disques sont

mesurés. L'interprétation en Sensible (S), Intermédiaire (I) et Résistant (R) a été faite selon les critères définis par (CFA-SFM-vet, 2013).

Résultat

et

discussion

I-Prélèvements, Isolement et purification

Au cours de notre travail nous avons collecté 102 échantillons issus de cinq régions différentes (Bejaia, Akbou, Souk-El-Teninne, Feraoun et Constantine). Nous avons isolé 59 souches. Le tableau III représente la répartition des prélèvements et des souches isolées.

Le tableau N° III: La répartition des prélèvements et des souches isolées

Région	Bejaia	Akbou	Souk-El-Teninne	Feraoun	Constantine	Total
Nombre de prélèvements	30	31	23	13	5	102
Nombre de souches isolées	10	12	20	12	5	59

II -Identification des souches

Les 59 souches isolées sont des entérobactéries. Elles sont identifiées comme étant des souches d'*E. coli*. Ce résultat peut être expliqué du faite que cette dernière est omniprésente dans l'appareil gastro-intestinal de la volaille (Moussa et al., 2007). Selon les résultats obtenus par « Resapath », la principale bactérie isolée chez la volaille est *E. coli* avec un taux de 70 % (Jarrige, 2012). Les résultats de l'identification biochimique sont présentés dans le tableau IV.

Tableau N° IV: Résultat de la galerie biochimique

Test	Cit	Lac	Sac	Glu	H2S	Gaz	Man/Mob	Nit	Ind	VP	RM
Résultat	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+

Cit: Citrate; **Lac:** Lactose; **Sac:** Saccharose; **Glu:** Glucose; **Man:** Mannitol; **Ind:** Indole
Mob: Mobilité; **Nit:** Nitrate.



Figure 1: L'aspect des souches d'*E. coli* sur BCP



Figure 2: L'aspect des souches d'*E. coli* sur EMB

III-Test de synergie (DD-TEST)

D'après les résultats de DD-test 52,54% des souches isolées présentent des images de synergies. Ces résultats sont présentés dans la figure 3.

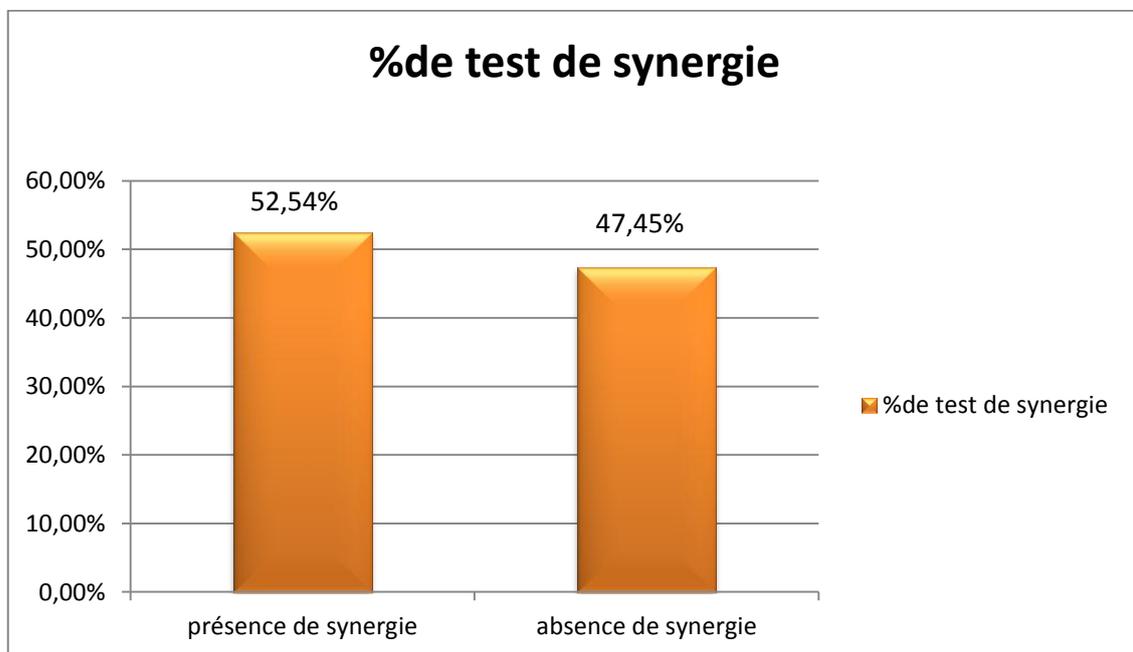


Figure 3 : Résultats de test de synergie

Les résultats du DD-test obtenues avec les souches d'*E. coli* isolées sont représentés dans le tableau V.

Tableau V: Les résultats de test de synergie positif

Les souches	CAZ	AMC	CTX	Image de synergie
	C	C	C	
AC14	R	R	R	CAZ-AMC-CTX
AC19	R	R	R	CAZ-AMC-CTX
AC20	R	R	R	CTX-AMC
AC23	R	R	R	CTX-AMC
AC26	R	R	R	CAZ-AMC-CTX
AC27	R	R	R	CAZ-AMC-CTX
AC28	I	R	R	CTX-AMC
AC29	I	R	R	CTX-AMC
AC30	I	R	R	CAZ-AMC
BC03	R	R	R	CAZ-AMC
BC08	R	R	R	CAZ-AMC
BC28	R	R	R	AMC-CTX
FC01J	I	I	R	CAZ-AMC
FC02	I	R	R	AMC-CTX
FC04	I	I	S	CAZ-AMC
FC05	R	I	I	CAZ-AMC
FC06J	R	I	R	CAZ-AMC
FC07	I	R	S	CAZ-AMC
FC08J	R	R	R	CAZ-AMC
FC09J	I	R	R	CAZ-AMC
FC11J	R	I	S	CAZ-AMC
FC12	I	R	R	CAZ-AMC
FC13	R	R	R	CAZ-AMC
FC30	R	I	I	CAZ-AMC
SEC01J	R	R	I	CAZ-AMC
SEC04	R	R	R	CAZ-AMC-CTX
SEC10	I	R	R	CTX-AMC
SEC12j	I	R	R	CTX-AMC
SEC18	I	R	R	CTX-AMC
SEC20	R	R	R	CTX-AMC
SEC22	R	R	R	CTX-AMC

AMC: Amoxiciline+Acide Clavulanique; **CTX:** Céfotaxime; **S:** Sensible; **C:** Caractère **I:** Intermédiaire; **R:** Résistant; **CAZ:** Céftazidime.

D'après le tableau V, 31 souches présentent l'image de synergie, indiquant la présence de BLSE, dont l'image est entre CAZ-AMC pour 15 souches, entre CTX-AMC pour 11 souches et entre CTX-AMC-CAZ pour 5 souches.

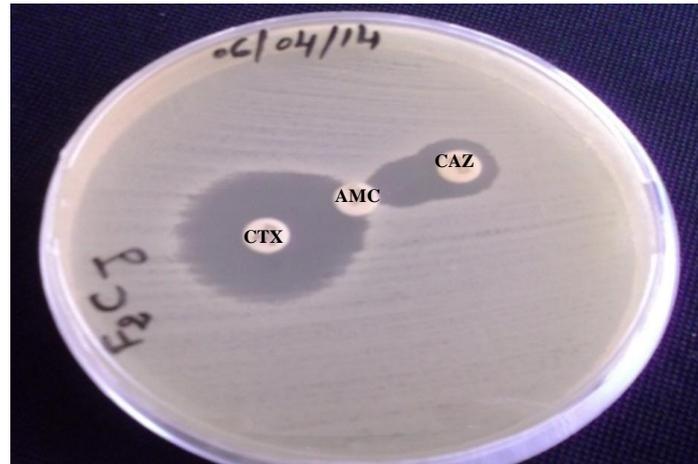


Figure 4 : Résultat du DD-TEST positif

La présence de l'image de synergie entre CAZ -AMC est due à la production de BLSE, probablement de type céftazidimases. La présence de l'image de synergie entre AMC-CTX est due à la production BLSE probablement de types CTX-M.

Les enzymes de type CTX-M sont généralement plus actives vis à vis de la céfotaxime que de la ceftazidime (Bonnet, 2004) et plus ou moins sensibles à la ceftazidime (Paterson et Bonomo, 2005). Cependant des mutations peuvent accroître leur activité contre la ceftazidime. Par exemple, les enzymes CTX-M-15 et 32 diffèrent des enzymes CTX-M-3 et 1, respectivement, par une substitution de l'asparagine en glycine en position 240. Cette seule modification suffit à augmenter de 100 fois leur activité contre la ceftazidime (Meunier et *al.*, 2006). De même, la séquence en acides aminés du variants CTX-M-14 diffère de CTX-M-9 par une substitution de l'alanine en valine (Ala-231 Val). Des éléments mobilisables portant les gènes *bla*CTX-M ont été identifiés. Ces éléments mobiles sont principalement localisés sur un large plasmide qui porte de multiples résistances. Les séquences d'insertions de type *ISEcp1* apparaissent souvent impliquées dans la mobilisation de ces gènes cependant, il ne s'agit pas d'une généralité, particulièrement pour les enzymes de type 2 et 9 (Su et *al.*, 2008).

Selon Carattoli (2008), les souches d'*E. coli* synthétisant des β - lactamases de type SHV-1, TEM-1 et OXA sont souvent isolées des animaux et des denrées alimentaires d'origine animale, en Espagne, en Allemagne, aux USA et au Royaume Uni.

D'autres types de BLSE ont été décrits chez les souches *d'E. coli* isolées du poulet dans différents pays. On cite les CTX-M-1 en Espagne et en France et en Suisse CTX-M-2 en Japon CTX-M-9 en Espagne, CTX-M-14 en Espagne et en Japon, CTX-M-15 en France, CTX-M-32 en Espagne CTX-M-24 et CTX-M-65 en Chine, CTX-M-8 en Tunisie SHV-12 en Espagne et en Suisse et SHV-5 en Espagne et en Tunisie et TEM-52 en Espagne et au Danemark TEM-57 en Chine TEM-1b en Tunisie (Shiraki, 2003; Jouini, 2007; Carattoli, 2008; Mortureux, 2012; Lucianne et al., 2013). Aussi dans la viande du poulet, ils ont trouvé les enzymes de type TEM-52, CTX-M-14 et CTX-M-32 en Portugal, CTX-M-1 en Italie et Japon, CTX-M-32 et SHV12 en Italie, CTX-M-2, CTX-M-14 et CTX-M-15 en Japon (Lucianne et al., 2013; Mitsuhiro, 2013).

Les résultats du DD-test obtenu avec les souches *d'E. coli* isolées sont présentés le dans tableau VI.

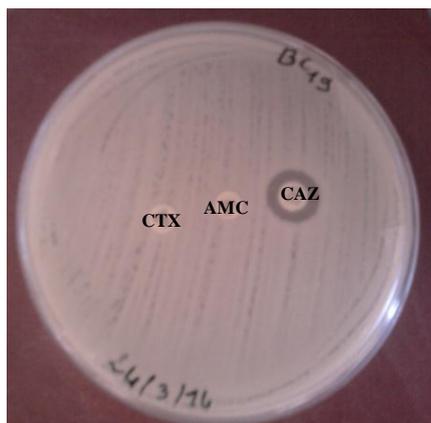
Tableau VI : Les résultats de test de synergie négatif

Les souches	CAZ	AMC	CTX	Image de synergie
	C	C	C	
AC11T	I	R	R	-
AC17	S	R	S	-
AC24	I	R	S	-
BC01	S	S	S	-
BC04	R	R	R	-
BC15	S	I	S	-
BC19	R	R	R	-
BC20	R	R	R	-
BC21	R	R	R	-
BC23	R	R	R	-
CC01	I	R	S	-
CC02	I	R	S	-
CC03	I	R	I	-
CC04	S	R	S	-
CC05	S	R	S	-
SEC01T	I	S	S	-
SEC08	I	R	S	-
SEC09	I	R	S	-
SEC11	I	R	S	-
SEC12T	S	R	I	-
SEC13	S	R	S	-
SEC14	S	R	S	-
SEC15T	S	R	S	-
SEC15V	S	R	S	-
SEC16	S	R	S	-

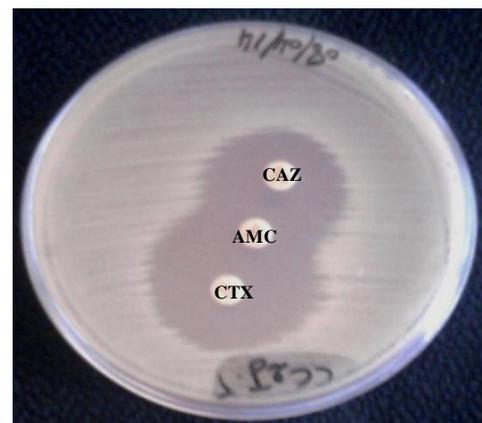
SEC17	I	R	S	-
SEC19	S	R	S	-
SEC23	R	R	S	-

AMC: Amoxiciline+Acide Clavulanique; **S:** Sensible; **I:** Intermédiaire; **R:** Résistante; **C:** Caractaire; **CTX:** Céfotaxime; **CAZ:** Céftazidim; **(-):** absence d'image de synergie.

Parmi les souches d'*E. coli* isolées, 47,45% ne présentent pas l'image de synergie, dont certaines présentant une sensibilité vis-à-vis CTX, AMC et CAZ. Cela est un caractère naturel (ou sauvage) avec une sensibilité a toutes les β -lactamines (Sougakoff et Trystram, 2003). D'autre souches sont résistantes vis-à-vis CTX et/ou AMC et/ou CAZ. L'absence de l'image de synergie dans ce cas peut être due soit à la production de céphalosporinase chromosomique seulement, ou l'hyperproduction de céphalosporinase chromosomique et de BLSE (où l'image de synergie est masquée), ou probablement par la production d'autre type de céphalosporinase. Soit à d'autres mécanismes de résistance comme : l'imperméabilité membranaire ou de système d'efflux.



(a)



(b)

Figure 5: Résultat du DD-TEST négatif

(a) : Résistance aux CTX et AMC et CAZ

(b) : Sensible aux CTX et AMC et CAZ

IV-Test de sensibilité aux antibiotiques

Les résultats de la sensibilité des souches productrices de BLSE vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques sont présentés dans le tableau VII.

Tableau N° VII: La sensibilité de la souche d'*E. coli* BLSE (+) aux antibiotiques

Souche	TOB	GN	COT	AN	TE
	C	C	C	C	C
AC14	R	S	S	I	R
AC19	S	S	R	R	R
AC20	S	S	R	R	R
AC23J	S	S	R	R	R
AC26	S	S	R	R	R
AC27	S	S	R	R	R
AC28	S	S	S	R	R
AC29J	S	S	R	R	R
AC30	S	S	R	R	R
BC03	R	S	S	R	R
BC08	R	S	S	R	R
BC28	R	S	S	R	R
FC01J	R	S	S	R	R
FC02	R	S	S	R	R
FC03	R	S	S	R	R
FC04	R	S	S	R	R
FC05	R	S	S	R	R
FC06J	R	S	S	R	R
FC07	R	S	S	R	R
FC08J	R	S	S	R	R
FC09J	R	S	S	R	R
FC11J	R	S	S	R	R
FC12	R	S	S	R	R
FC13	R	S	S	R	R
SEC01j	R	S	S	I	R
SEC10	S	S	R	R	R
SEC12j	S	S	R	R	R
SEC18	S	S	S	R	R
SEC19	S	S	S	R	R
SEC20	S	S	S	R	R
SEC22	S	S	R	R	R

GN: Gentamicine; **TOB:** Tobramycine; **TE:** Tétracycline; **COT:** Co-trimoxazole; **C:** Caractère; **AN:** Acide nalidixique.

D'après le tableau VII, les 31 souches BLSE positives testées sont résistantes à tétracycline, 17 souches sont résistantes à la Tobramycine (TOB), 10 souches sont résistantes à la co-trimoxazole (COT) et 29 souches sont résistantes à l'acide nalidixique. La gentamicine reste l'antibiotique le plus actif sur toutes les souches testées.

V -Phénotypes de résistance

Nous avons obtenu 4 phénotypes de résistance différents. La répartition de ces phénotypes selon les régions est présentée dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Les phénotypes de résistance obtenus

Phénotype	Nombre	La région
AN COT TE	7	Akbou
	3	Souk-El-Teninne
AN TOB TE	3	Bejaia
	12	Feraoun
AN TE	1	Akbou
	3	Souk-El-Teninne
TOB TE	1	Souk-El-Teninne
	1	Akbou

Le Tableau VIII montre que le phénotype à trois caractères de résistance (AN COT TE) est obtenu au niveau de deux régions Akbou et Souk-El-Teninne.

Le phénotype à trois caractères de résistance (AN TOB TE) est observé au niveau de deux régions Bejaia et Feraoun.

Le phénotype à deux caractères de résistance (AN TE) et (TOB TE) est obtenu au niveau de deux régions Akbou et Souk-El-Teninne.

Les souches d'*E. coli* sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs sur les entérobactéries, céphalosporines, quinolones, aminosides et triméthoprime-sulfaméthoxazole (Avria et al., 1992). La multirésistance aux antibiotiques chez les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) est un caractère fréquemment rencontré, car les plasmides codant pour les BLSE portent également d'autres gènes conférant la résistance aux autres familles d'antibiotiques (Winokur et al., 2005).

Dans la majorité des cas, la bactérie acquiert toutefois la résistance a posteriori, après exposition aux antibiotiques. Cette résistance acquise a comme caractéristique d'être

présente chez certaines souches de l'espèce microbienne et se transmet aux générations subséquentes de ces souches (Chevalier et *al.*, 2012).

La distribution globale des antibiotiques cause la résistance aux bactéries commensales dans les poulets sains nourris avec une alimentation anarchique et avec une concentration d'antibiotique non respectée. Généralement cette administration est collective qui est presque toujours via l'eau de boisson. En effet, les traitements individuels sont difficiles à administrer dans la pratique et les rations données aux poulets peuvent légalement contenir jusqu'à trois agents antimicrobiens (Moussa et *al.*, 2007; Dewulf et *al.*, 2013)

La résistance d'*E. coli* à l'acide nalidixique peut être due à l'utilisation des quinolones en élevage, ils sont considérés parmi les anti-infectieux les plus efficaces surtout dans le traitement de colibacillose. Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN bactérien en se fixant sur le complexe "ADN-ADN gyrase", ce qui empêche la réplication et la transcription de l'ADN bactérien (Yala et *al.*, 2001). La résistance des souches d'*E. coli* due soit à des mutations chromosomiques dans les gènes codant pour l'ADN gyrase et ADN topoisomérase qui interviennent dans la transcription et la réplication de l'ADN ou par un phénomène d'efflux ou à une diminution de la perméabilité membranaire (Lee et *al.*, 2005). La contribution de ces différents mécanismes n'est pas aussi bien définie que pour *E. coli*, leurs interactions permettent néanmoins à la bactérie d'acquérir des niveaux élevés de résistance, et la diffusion de cette résistance peut être due à la propagation des clones résistants. (A.F.S.S.A, 2006).

La résistance d'*E. coli* au co-trimoxazole peut être expliquée par utilisation des sulfamides en élevage comme substances anticoccidiennes dans les aliments. Les sulfamides inhibent d'une façon compétitive la dihydroptéroate synthétase qui intervient dans la synthèse de l'acide dihydrofolique. Le triméthoprime, par son analogie structurale au dihydrofolate, est un inhibiteur compétitif de la dihydrofolate réductase qui réduit le dihydrofolate en tétrahydrofolate. La résistance au triméthoprime-sulfonamide est plasmidique codée par les deux gènes *sul1* et *sul2* qui s'intègrent dans le chromosome de la bactérie et provoquent des variations dans les deux enzymes cibles (dihydroptéroate-synthase et dihydrofolate réductase) causant la résistance aux sulfonamides et triméthoprimes respectivement (Sköld, 2001).

Les souches d'*E. coli* présente une résistance à la tétracycline (TE), cette résistance peut être expliquée par utilisation de tétracycline aux cour de l'élevage en cas d'infections. Les tétracyclines présentent une activité bactériostatique. Elles interagissent avec les ribosomes bactériens et inhibent la synthèse des protéines. Trois différents mécanismes de résistance aux tétracyclines sont décrits: le système d'efflux, la protection ribosomale par des protéines et l'inactivation enzymatique des tétracyclines (Michalova et *al.*, 2004).

Les souches d'*E.coli* présente une résistance à Tobramycine (TOB), cette résistance peut être due à utilisatin des aminosides lors des infections particulièrement sévères ou lorsque les défenses immunitaires sont incapables d'éliminer les germes infectieux. Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la sous unité 30S du ribosome entraînant la mort bactérienne (Yala et *al.*, 2001). Les mécanismes de résistance aux aminoglycosides connus peuvent être classés en trois types: modifications enzymatiques de l'antibiotique, modification de la cible et diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique par l'imperméabilité membranaire (Carbon et *al.*, 1995).

D'après les études qui ont faites à l'ouest de l'Algérie selon Aggad et *al.* (2010), l'usage excessif des antibiotiques dans le but prophylactique et le traitement inapproprié explique le taux élevé de l'antibiorésistance et la multirésistance d'*E. coli* dans l'aviculture.

Conclusion

La résistance aux antibiotiques suscite une vive inquiétude en termes de santé publique. Le portage digestif de souches productrices de BLSE est devenu non négligeable avec un réservoir de BLSE animal important. Dans ce contexte nous avons étudié le portage digestif des entérobactéries productrices de BLSE chez le poulet de chair. Nous avons isolé et purifié 59 souches d'*E. coli* dont 31 souches sont productrices de BLSE.

L'augmentation de la productivité en aviculture a été rendue possible à la suite de l'implantation de plusieurs pratiques, comme l'utilisation des antibiotiques pour prévenir et guérir les maladies. Mais l'usage accru et inapproprié des antibiotiques peut contribuer à la création de réservoirs de microorganismes résistants, cette conséquence est observée chez les souches que nous avons isolé. Ces souches présentent des résistances variables vis-à-vis des antibiotiques testés telle que l'acide nalidixique, co-trimoxazole, tétracycline et tobramycine à l'exception de la gentamicine qui reste l'antibiotique le plus efficace. Cela nous a permis d'obtenir quatre phénotypes de résistance différents à trois ou deux caractères.

L'antibiorésistance et son transfert éventuel à des bactéries humaines par les agents pathogènes présents dans les aliments d'origine animale ont ajouté aux préoccupations du grand public et renforcé l'attention portée par les scientifiques à l'utilisation des antibiotiques à titre thérapeutique et subthérapeutique chez les animaux.

Les élevages d'animaux sont particulièrement propices à l'émergence de bactéries résistantes qui peuvent se disséminer dans l'environnement, vers l'Homme et d'autres animaux.

La surveillance de la résistance aux antibiotiques via les réseaux de surveillance en élevage permet une meilleure compréhension des mécanismes de diffusion des gènes de résistance et de leurs supports génétiques dans l'espoir de contrecarrer le développement de la résistance aux antibiotiques. En effet, la lutte contre la résistance aux antibiotiques est l'objectif principal du plan Ecoantibio 2017, qui détaille et chiffre les évolutions sanitaires ayant motivé une mobilisation européenne et mondiale, visant à inverser la tendance que l'on connaît depuis plusieurs décennies : l'augmentation de l'antibiorésistance.

Afin de diminuer l'apparition et la propagation des bactéries résistantes aux antibiotiques nous proposons les recommandations suivantes :

- Les vétérinaires devraient orienter des éleveurs vers les produits biologiques tels que les probiotiques, les prébiotiques.
- La viande de poulet doit toujours faire l'objet d'une cuisson suffisante, tant du point de vue de la protection contre une infection par ces germes zoonotiques que de la prévention vis-à-vis de l'infection par des bactéries résistantes aux antibiotiques.
- Mise en place d'un programme de surveillance de la résistance aux antibiotiques dans différents niveaux de la chaîne de production alimentaire.
- Faire une campagne de sensibilisation afin de prendre conscience aux détenteurs d'animaux et aux vétérinaires du problème d'émergence de l'antibiorésistance et pour les encourager à respecter une utilisation raisonnable des antibiotiques.

Les résultats obtenus dans notre étude reste préliminaires, car cette dernière est limitée dans l'espace et dans le temps, et elle doit être complétée par d'autres études, à savoir :

- Elargir l'étude sur d'autres groupes bactériens dans le tube digestif.
- Faire des prélèvements dans l'environnement qui entourent la ferme.
- Elargir l'étude dans le temps et dans l'espace.
- Etablir une étude statistique afin de déterminer certains facteurs de risque dans l'acquisition de la résistance.
- Compléter l'étude par les techniques de biologie moléculaire.

Références

bibliographique

Agence Française de Sécurité Sanitaire Des Aliments. (2006). Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine .232p

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

Avril J, Dabernat H, Denis F et Monteil H. (1992). Bactériologie clinique. Eddition: Ellipes. Paris. 522p.

Beaudreau L, Lise-Andrée G et Gourdeau M. (2010). Prévention et contrôle de la transmission des entérobactéries productrices de carbapénémases dans les milieux de soins aigus du Québec. Institut national de santé publique du Québec. p37

Bonnet R. (2004). Growing group of extended-spectrum B-lactamases: the CTX-M enzymes. AntimicrobAgents Chemother; 48:1-14

Brudere C. (1992). La thérapeutique aviaire.Manuel de pathologie aviaire,édition: Jeanne Brugere-Picoux et Amer Silim, 365-367.

Cantón R, Coque TM. (2006). The CTX-M β -lactamase pandemic. Curr Opin Microbiol. 9,466-75

Carattoli A. (2008). Animal reservoirs for extended spectrum β -lactamase producers. Clin Microbiol Infect. 14, 117–123.

Carbon C, Régnier B, Saimot AG érard, Vildé JL et Yeni P. (1994). Médicaments anti-infectieux. Médecin-science Flammarion. 506p.

Cavallo JD, Fabre R, Jehl F, Rapp C et Carrabé E. (2004). β -lactam antibiotics. EMC-Maladies infectieuses. 01,129-202.

Chevalier P et Lucie D. (2012). L'usage des substances antimicrobiennes en production animale : position des experts et des gouvernements. Institut national de santé publique. Québec. 75p.

Dewulf J, Imberechts H et Gustin. (2012). Utilisation raisonnée des substances antibactériennes lors du traitement collectif des animaux de rente et conséquences sur la sélection de la résistance. Comité Scientifique de L'agence Fédérale pour La Sécurité de la Chaîne Alimentaire. 59p.

Didier M et Guillemo T (Institut Pasteur - Paris). (2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine

Drouin P. (1988). Aspects généraux de la pathologie aviaire. In: Aviculture française: Informations Techniques. Eddition: ROSSET R. Paris. 816p

Duchatel J P. (2002). L'appareil digestif - la flore digestive. Flug gut juin <http://www.carlosmarquezprats.com/fsecciones/editorial1.asp>

Ergun E, Ergun L, Asti RN et Kurum. (2003). Morphologie des cellules de Paneth de l'intestin grêle de mouton en microscopie optique et électronique. Médecine vétérinaire. 351p.

Fouillade P, Guillet M et Ménard J-N. (2010). Compétitivité de la filière volailles française. CGAAER.n°10032.53p.

Fuller R. (2000). Intestinal Microecology Consultant, Russet House, Ryeish Green, Reading, Berkshire Le contenu de cette page est disponible sur le site du Dr. Karl Frank, Webmaster of the site www.albertaclassics.com

Gabriel I, leconte M, Guillon J, Rideaud P, Moreau-Vauzelle C et Dupont C. (2007). Variabilité individuelle de la flore digestive du poulet observé par empreinte moléculaire. Septièmes Journées de la Recherche Avicole. 28 et 29 mars 2007 Tours.

Gournier-Chateau N, Larpent JP, Castellanos MI et Larpent JL. (1994). Les Probiotiques: L'écosystème digestif, les probiotiques en alimentation animale et humaine. Eddition: Techniques et documentation. Lavoisier.192p.

Gabriel I, Mallet S et Sibille p. (2005). La microflore digestive des volailles : facteurs de variation et conséquences pour l'animal. INRA Prod. Anim.18, 309-322

Hammoudi M et Aggad H. (2008). Antibiorésistance of Escherichia coli strains isolated from chicken colibacillosis in westem Algeria. Turk.J.Vet.Anim.Sci **32**:123-126.

Irène G, Serge M. and Michel L. (2003). La microflore digestive: une composante oubliée de la nutrition des volailles. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole 26 et 27 mars 2003. Tours.

Jarrige N, Jouy E, Haenni M, Gay E et Madec JY. (2012). Résapath Réseau d'épidémiologie surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales. Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail. 163p

Joly B et Reynaud A. (2002). Entérobactéries. Eddition: médicales internationales. Paris.P356.

Kaci A et Cheriet F. (2013). Analyse de la compétitivité de la filière de viande de volaille en Algérie: tentatives d'explication d'une déstructuration chronique. New Medit n° 2, 11- 22.

Lam E, Kai Y, Cho CH, Woo P et Chiu Y. (2005). Probiotiques and Gastrointestinal Disorders. Pharmacologyonline1, 88-147

Lavigne JPH, Marchandin J, Delmas J, Moreau N, Bouziges E, Lecaillon L, Cavalie H, Jean-Pierre R, Bonnet et Sotto A. (2007). CTX-M B⁻lactamase-producing Escherichia coli in French hospitals: prevalence, molecular epidemiology, and risk factors. J Clin Microbiol **45**:620-6.

Le Minor C et Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour identification des entérobactéries. Institut Pasteur, France. 217p.

Lee YJ, Cho JK, Kim KS, Tak RB, Kim AR, Kim JW, Im SK et Kim BH. (2005). Fluoroquinolone Resistance and gyrA and parC Mutations of Escherichia coli Isolated from Chicken. J. Microbiol. **43**: 391-397.

Leeson S. et Zubair AK. (2004). Digestion in Poultry II, Carbohydrates, Vitamins and Minerals Department of Animal and Poultry Science, University of Guelph Ontario, Canada N1G 2W1 (Copyright © 2000-2004 Novus International, Inc. All Right Reserved. http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/basics/gi_microanatomy.html

Lucianne L S, Rodrigo A M, Priscillia AR, Antônio P et Nilton L. (2013). Current status of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in animals. technology and education. 1600-1607.

Lybbey J. (2000). L'essentiel de l'information scientifique et médicale L'interaction des bactéries avec les cellules épithéliales: une clé pour la compréhension des maladies inflammatoires de l'intestin, Hépatogastro. **17 Suppl 6**

Madec JY, Haenni M, Eric J, Sophie G, François-Xavier W et Simon H. (2012). Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de dernières générations: de l'animal à l'Homme. Bulletin épidémiologique. Santé animale et alimentation. **53p**.

Martel JL. (1996). Critères de choix d'un antibiotique. Epidémiologie et surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez l'animal. EPIDEM. SANTE. ANIM. **29** :107-120.

Meunier D, Jouy E, Lazizzera C, Kobisch M, et Madec JY. (2006). CTX-M-1- and CTX-M-15-type β -lactamases in clinical Escherichia coli isolates recovered from food-producing animals in France. J. Antimicrob. Agents **28**:4027

Michalova E, Novotna P and Schlegelova J. (2004). Tetracyclines in veterinary medicine and bacterial resistance to them. Vet. Med – Czech. **49**: 79–100.

Mitsuhiro K, Takehisa C, Junko Y, Kiyoshi T, Hiroyuki I et Karoku O. (2013). Prevalence and Epidemiological Relationship of CMY-2 AmpC β -Lactamase and CTX-M Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Escherichia coli Isolates from Broiler Farms in Japan. Vet. Med. Sci. **75**: 1009–1015.

Mortureux M. (2012). L'antibiorésistance en santé animale. Agence nationale du médicament vétérinaire. 18p.

Moussa S, Fred G S, Fatoumata D, Jane P, Luke M, Roland B, Claudie B, Pascal D, Susan B, Brent JS, et Edward T. (2007). Impact of Feed Supplementation with

Antimicrobial Agents on Growth Performance of Broiler Chickens, Clostridium perfringens and Enterococcus Counts, and Antibiotic Resistance Phenotypes and Distribution of Antimicrobial Resistance Determinants in Escherichia coli Isolates. **73** Suppl **20**: 6566–6576

Paterson DL, Bonomo RA. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev; **18**:657-86

Perugini A., et Agnoletti, B.(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^{ème} journées de la recherche cunicole, 29-30 novembre 2005. Paris France.

Philippon A, Arlet G, et Jacoby G. (2002). Plasmid-Determined AmpC-Type β -Lactamases. Antimicrob Agents Chemother **46**:1-11.

Rodriguez-Villalobos H. et Struelens M.J. (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. Réanimation **15** .205–213

Shiraki Y, Shibata N, Doi Yet Arakawa Y. (2004). Escherichia coli producing CTX-M-2 -lactamase in cattle, Japan. Emerg. Infect. Dis. **10**: 69–75

Sköld O. (2001). Resistance to trimethoprim and sulfonamides. Vet. Res. **32**: 261–273.

Su, LH, Chu C, Cloeckaert A et Chiu CH. 2008. An epidemic of plasmids Dissemination of extended-spectrum cephalosporinases among Salmonella and other Enterobacteriaceae. FEMS Immunol. Med. Microbiol. **52**:155-68.

Tatsadjieu Nguone L, Kemgang Sonfack T et Mbofung CMF. (2009). Impact de l'utilisation des antibiotiques sur la sensibilité des bactéries pathogènes de poules dans la ville de Ngaoundéré. Cameroon Journal of Experimental Biology. **05** Suppl **02**, 52-61.

Todar. Kenneth. (2004). Nutrition and growth of bacteria © 2004 University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology
<http://www.bact.wisc.edu/Bact330/lecturenf>

Winokur PL, Canton R, Casellas JM et Legakis N. (2001). Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamases phenotype and characterisation of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. Clin Infect Dis. **32**:S94-103.

Yala D, Merad AS, Mohamedi D et Ouar Korich MN. (2001). Classification et Mode d'action des antibiotiques. Revue Médecine du Maghreb. **91**, 5-12.

Annexes



Annexe I

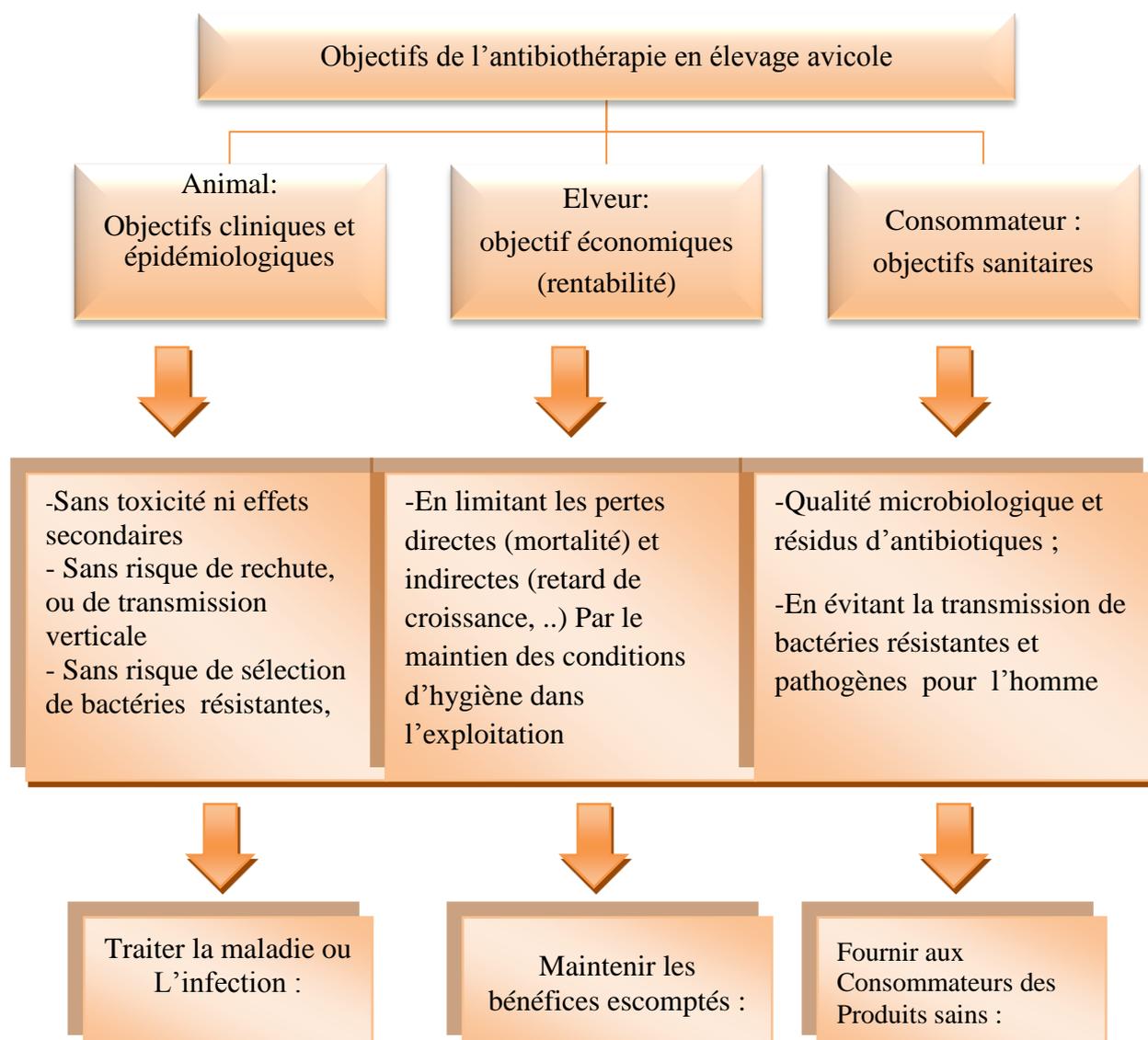
La comparaison entre aviculture en Algérie et en France

	Algérie (2010)	France (2010)
Age d'abattage ² (jours)	55,48	43,06
Poids à l'abatage ³ (Kg)	2,29	2,27
Gain moyen quotidien ⁴ (g/j)	40,54	52,58
Indice de consommation ⁵	2,48	1,98
Mortalité (%) ⁶	9,93	3,4
Densité (animaux/M ²)	9,3	21,7
Indice de performance ⁷	149	257

2 : Correspond à la production "standard"; **3** : Dépend de la souche et de l'âge d'abattage;
4 : Gain Moyen Quotidien (Caractérise la vitesse de croissance d'un lot de volaille de chair qui dépend de la souche et de la durée de l'élevage) = Poids à l'abatage - Poids des poussins/ Age à l'abatage ; **5** : Indice de Consommation (Quantité d'aliment nécessaire pour produire un kg de poids vif. Augmente avec l'âge, prend en compte le gaspillage d'aliment et la mortalité) = Quantité d'aliments consommés / Quantité de viande produite;
6 : Différence entre le nombre de poussins reçus et le nombre de poulets livrés à l'abattoir. Données en pourcentage (taux de mortalité); **7** : Indice performance (Il s'agit d'une variable synthétique qui prend en compte plusieurs paramètres zootechniques) = Gain Moyen Quotidien x viabilité/10 x Indice de consommation. Précisons que la viabilité (exprimée en %) est mesurée par la formule: 100 % -Taux mortalité.

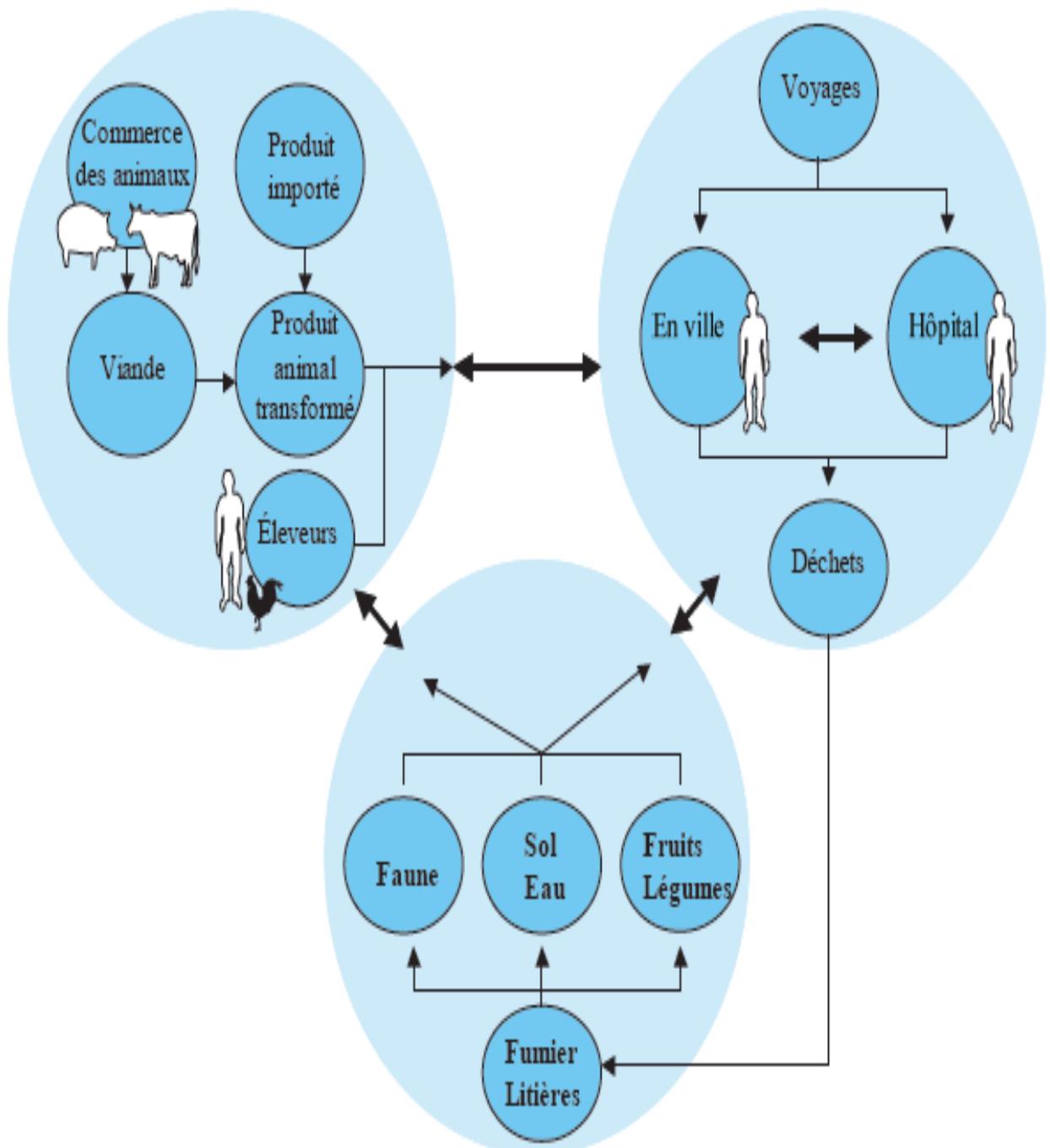
Annexe II

Utilisation des antibiotiques en élevage avicole (Brudere, 1992; Martel, 1996)



Annexe III

Les voies de dissémination potentielle des bactéries résistantes et des gènes de résistance



Annexe IV

Composition des différents milieux de cultures utilisés et réactifs

BCP

Peptone	5 g
Extrait de viande	3g
Lactose	10g
Agar	15g
Pourpre de bromocrésol	0,025g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7

EMB

Peptone	10g
Lactose	10g
Eosine	0,4g
Bleu de méthylène	0,065g
Hydrogénophosphate de potassium	2g
Agar	15g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	6,8

MANNITOL-MOBILITE

Peptone tryptique de viande	20 g
Mannitol	2 g
KNO ₃	1 g
Rouge de phénol 1%	4mL

Agar	4 g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7,6

Bouillon CLARK et LUBS

Peptone tryptique de viande	5g
Phosphate bipotassique	5g
Glycose	5g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7

Bouillon Eau Peptonée Exempte d'indole

Peptone	10g
Tryptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7,2

Bouillon NITRATE

Infusion Cerveau. Cœur	25g
Nitrate de potassium	10g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7,2

Muller-Hinton

Infusion de viande de boeuf déshydraté	3g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	10g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7,4

Milieu de Citrate de Simmons

Citrate de sodium	02g
Chlorure de sodium	05g
Sulfate de magnésium	0,2g
Phosphate monoammoniaque	0,1g
Phosphate bipotassique	0,1g
Bleu de bromothymol	0,08g
Agar	15g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7,2

TSI (Triple Sugar Iron)

Peptone	20g
Extrait de viande	2,5g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Citrate ferrique	0,5g
Thiosulphate de sodium	0,5g
Lactose	10g
Saccharose	10g
Glycose	1g
Rouge de phénol	0,024
Agar	11g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7,4

Bouillon nutritif

Peptone	10g
Extrait de viande	05g
Chlorure de sodium	05g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH	7

Réactif de VPI

alpha -naphtol	16 g
Alcool à 90 q.s.p	100 ml

Réactif VPII

NaOH	4N
------	----

Réactif de Kovacs

Alcool amylique	5 g
Paradiméthylamino-benzaldéhyde	75 ml
HCL pur	25 ml

Réactifs de nitrate réductase**Réactif de GRIESS I**

acide sulfanilique	0,5 g
acide acétique	50 ml
eau distillée q.s.p.	100 ml
pH	7.5

Réactif de GRIESS II

alpha-naphtylamine	0,2 g
acide acétique	50 ml
eau distillée q.s.p.	100 ml
pH	7.5

Rouge de Méthyle

Eau bidistillée	50cc
Ethanol absolu	50cc
Rouge de méthyle	0,1g

Annexe V

Les résultats de test de synergie positif

Les souches	CAZ		AMC		CTX		Image de synergie
	Φ	C	Φ	C	Φ	C	
AC14	19	R	6	R	8	R	CAZ-AMC-CTX
AC19	20	R	8	R	14	R	CAZ-AMC-CTX
AC20	20	R	6	R	11,7	R	CTX-AMC
AC23	20	R	6	R	18	R	CTX-AMC
AC26	20	R	10	R	14	R	CAZ-AMC-CTX
AC27	20	R	10	R	12	R	CAZ-AMC-CTX
AC28	22	I	6	R	14	R	CTX-AMC
AC29	22	I	6	R	14	R	CTX-AMC
AC30	24	I	8	R	12	R	CAZ-AMC
BC03	16	R	6	R	22	R	CAZ-AMC
BC08	15	R	6	R	22	R	CAZ-AMC
BC28	16	R	6	R	20	R	AMC-CTX
FC01J	24	I	14	I	14	R	CAZ-AMC
FC02	23	I	6	R	12	R	AMC-CTX
FC03	16	R	16	I	24	I	CAZ-AMC
FC04	22	I	16	I	14	S	CAZ-AMC
FC05	14	R	16	I	24	I	CAZ-AMC
FC06J	14	R	14	I	22	R	CAZ-AMC
FC07	24	I	6	R	26	S	CAZ-AMC
FC08J	16	R	12	R	22	R	CAZ-AMC
FC09J	22	I	12	R	16	R	CAZ-AMC
FC11J	12	R	20	I	26	S	CAZ-AMC
FC12	24	I	14	R	14	R	CAZ-AMC
FC13	14	R	8	R	8	R	CAZ-AMC
SEC01J	18	R	10	R	25	I	CAZ-AMC
SEC04	16	R	10	R	20	R	CAZ-AMC-CTX
SEC10	26	I	8,9	R	13,8	R	CTX-AMC
SEC12j	22	I	6	R	16	R	CTX-AMC
SEC18	26	I	6	R	20	R	CTX-AMC
SEC20	25	R	10,2	R	17	R	CTX-AMC
SEC22	10	R	6	R	6	R	CTX-AMC

Annexe VI

Les résultats de test de synergie négatif

les souches	CAZ		AMC		CTX		image de synergie
	Φ	C	Φ	C	Φ	C	
AC11T	23	I	6	R	6	R	-
AC17	26	S	6	R	28	S	-
AC24	25	I	6	R	27	S	-
BC01	28	S	23	S	29	S	-
BC04	7	R	6	R	11	R	-
BC15	27	S	18	I	28	S	-
BC19	12	R	6	R	17	R	-
BC20	12	R	6	R	17	R	-
BC21	13	R	6	R	19	R	-
BC23	13	R	6	R	17	R	-
CC01	22	I	10	R	28	S	-
CC02	22	I	8	R	28	S	-
CC03	20	I	8	R	24	I	-
CC04	26	S	8	R	30	S	-
CC05	26	S	8	R	30	S	-
SEC01T	21	I	25	S	29	S	-
SEC08	24	I	6	R	29	S	-
SEC09	22	I	8	R	28	S	-
SEC11	22	I	6	R	28	S	-
SEC12T	26	S	6	R	23	I	-
SEC13	27	S	6	R	27	S	-
SEC14	26	S	6	R	30	S	-
SEC15T	27	S	6	R	26	S	-
SEC15V	27	S	6	R	28	S	-
SEC16	26	S	6	R	29	S	-
SEC17	24	I	6	R	29	S	-
SEC19	26	S	8	R	30	S	-
SEC23	6	R	6	R	26	S	-

Annexe VII

La sensibilité des souches d'*E.coli* aux antibiotiques

Souche	TOB		GN		COT		AN		TE	
	Φ	C	Φ	C	Φ	C	Φ	C	Φ	C
AC14	15	R	18	S	18	S	19	I	6	R
AC19	23	S	23	S	6	R	6	R	6	R
AC20	22	S	20	S	6	R	6	R	6	R
AC23J	28	S	24	S	6	R	6	R	6	R
AC26	21	S	18	S	6	R	6	R	6	R
AC27	23	S	22	S	6	R	6	R	6	R
AC28	24	S	20	S	27	S	6	R	6	R
AC29J	20	S	19	S	6	R	6	R	6	R
AC30	22	S	21	S	6	R	6	R	9	R
BC03	15	R	18	S	18	S	6	R	6	R
BC08	14	R	19	S	18	S	6	R	9	R
BC28	14	R	18	S	18	S	6	R	9	R
FC01J	15	R	18	S	17	S	6	R	8	R
FC02	17	R	20	S	18	S	6	R	6	R
FC03	15	R	19	S	19	S	6	R	6	R
FC04	15	R	18	S	18	S	6	R	7	R
FC05	16	R	18	S	18	S	6	R	7	R
FC06J	15	R	19	S	16	S	6	R	7	R
FC07	16	R	19	S	18	S	6	R	8	R
FC08J	15	R	18	S	17	S	6	R	9	R
FC09J	15	R	19	S	18	S	8	R	6	R
FC11J	15	R	18	S	17	S	6	R	6	R
FC12	15	R	18	S	17	S	6	R	7	R
FC13	16	R	18	S	19	S	6	R	7	R
SEC1j	16	R	18	S	18	S	17	I	6	R
SEC10	22	S	20	S	6	R	6	R	6	R
SEC12j	26	S	24	S	6	R	6	R	6	R
SEC18	22	S	21	S	28	S	6	R	6	R
SEC19	24	S	22	S	32	S	7	R	6	R
SEC20	21	S	20	S	27	S	6	R	6	R
SEC22	22	S	21	S	6	R	6	R	6	R

Annexe VIII

Diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques selon les recommandations décrites par (CASFM vet 2013).

Antibiotiques	Abréviation	Famille	Charge de disque (μg)	Diamètres critiques en mm	
				S	R
Céfotaxime	CTX	B-lactamines	30	≥ 26	< 23
Céftazidime	CAZ	B-lactamines	30	≥ 26	< 21
Amoxicilline+acide clavulanique	AMC	B-lactamines inhibiteur de bêtalactamase	(20+10)	≥ 21	< 14
Gentamicine	GN	Aminosides	15	≥ 18	< 16
Tobramycine	TOB	Aminosides	10	≥ 18	< 16
Tétracycline	TE	Tétracyclines	30	≥ 19	< 17
Co-trimoxazole	COT	Sulfamides	25	≥ 16	< 10
Acide nalidixique	AN	Quinolones	30	≥ 20	< 15

Résumé

La résistance aux antibiotique se développe de plus en plus rapidement et de manière quasi universelle. L'élevage des animaux particulièrement favorise l'émergence de bactéries résistantes qui peuvent se disséminer dans l'environnement, vers l'Homme et d'autres animaux. Dans le but d'étudier le portage digestif des souches d'entérobactéries productrices de BLSE chez le poulet de chair, nous avons effectué des prélèvements au niveau du caecum de 102 échantillons issus de cinq régions différentes (Bejaia, Akbou, Souk-El-Teninne, Feraoun et Constantine). Nous avons isolés 59 souches d'entérobactéries sur la gélose de BCP additionnée de céftazidime (4µg/ml), les 59 souches sont identifiées comme étant des souches d'*E. coli* dont 31 souches sont productrice de BLSE. La sensibilité de ces souches est testée vis-à-vis d'autres familles d'antibiotique. Ces souches présentent des résistances variables vis-à-vis des antibiotiques testés telle que l'acide nalidixique, co-trimoxazole, tétracycline et tobramycine à l'exception de la gentamicine qui reste l'antibiotique le plus efficace. Cela nous a permis d'obtenir quatre phénotypes de résistance différents à trois ou deux caractères.

Mots clés : Poulet de chair, la flore intestinale, *E. coli*, antibiorésistance, BLSE.

Abstrat

The antibiotic resistance develops more and more quickly and almost universally. The breeding of the animals, particularly, promotes the emergence of bacteria resistant which can be disseminated in the environment, towards the Man and other animals. In other to studies the digestive portage of enterobacteries ESBL producing in poultry, we conducted sampling on the caecum in 102 samples from five different areas (Bejaia, Akbou, Souk-El-Teninne, Feraoun and Constantine). We isolated 59 enterobacteries strains on the BCP agar added with céftazidime (4µg/ml), the 59 strains are identified as *E. coli* with 31 strains are producing BLSE. The sensitivity of these strains is tested into other antibiotics families. These strains have variable resistors to antibiotics tested such as the acid nalidixic, Co-trimoxazole, tétracycline and tobramycin except for the gentamicin which remains the most effective antibiotic. That allowed us to obtain four different phenotypes of resistance with three or two resistance trait.

Mots clés : farming braoilers, flora intestinal, *E. coli*, antibiorésistance, ESBL.