République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université de Tébessa
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département : Biologie appliquée

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Domaine: Sciences de la nature et de la vie
Filière: Sciences biologiques
Option : Microbiologie appliquée

Intitulé

Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées de viande hachée commercialisée à Tébessa

Présenté par:

Menagria Kenza
Djoulah Souha
Guerfi Malia

Devant le jury:

Mme Chadi. H	**MAA**	**Université de Tébessa**	**Présidente**
Mme Azizi. N	**MAA**	**Université de Tébessa**	**Examinatrice**
Dr Debabza. M	**MCA**	**Université de Tébessa**	**Promotrice**
Dr Mechai. A	**MCA**	**Université de Tébessa**	**Co-promoteur**

Date de soutenance : 20 Juin 2019.
Note : 16/ 20 Mention : Très bien

ملخص

تحتل البكتيريا المعوية مكانا هاما في علم الجراثيم الطبية. حيث أنها مسؤولة عن العديد من العدوى، من بينها إصابات الجهاز الهضمي المتورطة فيها معظم الأحيان اللحوم. بالإضافة إلى ذلك فهي تعرف اليوم تطورا سريعا جدا في مقاومتها للمضادات الحيوية.

الهدف من هذا العمل هو تقييم مقاومة المضادات الحيوية من طرف السلالات المعوية معزولة من اللحم المفروم المسوق في منطقة تبسة.

أخذ العينات و العزل أجريت وفقا للتقنيات المعتادة، التعريف تم تحقيقه بواسطة نظام المنمنمة Api 20 E ، بينما إختبار الحساسية للمضادات الحيوية تمت دراستها وفقا لطريقة انتشار الأقراص في وسط أجار.

من بين 15عينة مأخوذة من مختلف الجزارين, تمكنا من عزل و تعريف 30 سلالة معوية تنتمي إلى 9 أصناف: *Escherichia* و Klebsiella (20% لكل منهما), *Salmonella* و*Serratia* يمثلان نسب متساوية (16,67%)، *Proteus* و *Kluyvera* (6,67% لكل منهما) وأخيرا *Citrobacter, Hafnia ,Enterobacter*.

أظهرت نتائج إختبار الحساسية مستويات عالية من المقاومة للمضادات الحيوية: السيفتازيديم (90%)، الاموكسيسيلين (76,67%) ,الكوتريموكسازول (73, 33%)، اوفلوكساسين و السيفالكسين (66,67%)، تيكارسيلين و سيبروفلوكساسين (53, 33%). علاوة على ذلك فان 60% من السلالات كانت متعددة المقاومة. ومع ذلك يظل الايميبينيم و الامينوغليكوزيدات المضادات الحيوية الأكثر فعالية .

أظهرت السلالات المعزولة أنماط مقاومة مختلفة، حيث معظمها تتوافق مع ثلاثة اسر من المضادات الحيوية, بشكل عام بيتا لاكتام , الفليوروكينولونات و التريميثوبريم-السلفوناميدات .

الكلمات المفتاحية: بكتيريا الأمعاء، مقاومة المضادات الحيوية، اللحم المفروم .

Abstract

Enterobacteriaceae occupy an important place in medical bacteriology, being responsible for various infections, among others the digestive infections whose meats are most frequently incriminated. In addition, they are now experiencing a very rapid change in their resistance to antibiotics.

The objective of this study is to evaluate the antibiotic resistance of strains of enterobacteria isolated from minced meat marketed in the Tébessa region.

The sampling and isolation were carried out according to the usual techniques; the identification was carried out by the API 20E biochemical gallery, while the sensitivity to antibiotics was studied according to the diffusion method in agar medium.

From 15 samples taken in different butcher shops, we have isolated and identified 30 strains of enterobacteria belonging to nine genera: *Escherichia* and *Klebsiella*(20% each), *Salmonella* and *Serratia*with equal percentages (16.67%), *Proteus* and *Kluyvera*(6.67% each) and finally *Citrobacter*, *Enterobacter*and*Hafnia*.

Antibiotic results showed high levels of resistance to antibiotics: ceftazidime (90%), amoxicillin (76.67%), cotrimoxazole (73.33%), ofloxacin and cephalexin (66.67%), ticarcillin and ciprofloxacin (53.33%). In addition, 60% of the strains were multiresistant. Nevertheless, imipenem and aminoglycosides remain the most effective antibiotics.

The isolated strains showed different resistance patterns, most of which correspond to three families of antibiotics, usually β-lactams, fluoroquinolones and trimethoprim-sulfonamides.

Key words: enterobacteria, antibiotic resistance, minced meat.

Résumé

Les entérobactéries occupent une place importante en bactériologie médicale, étant responsables de diverses infections, entre autres les infections digestives dont les viandes sont les plus fréquemment incriminées. De plus, elles connaissent aujourd'hui une évolution très rapide de leur résistance aux antibiotiques.

L'objectif de ce travail consiste à évaluer la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées de la viande hachée commercialisée dans la région de Tébessa.

Le prélèvement et l'isolement ont été effectués selon les techniques usuelles, l'identification a été réalisée par la galerie biochimique API 20E, alors que la sensibilité aux antibiotiques a été étudiée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé.

À partir de 15 échantillons prélevés de différentes boucheries, on a pu isoler et identifier 30 souches d'entérobactéries appartenant à neuf genres : *Escherichia* et *Klebsiella* (20% chacun), *Salmonella* et *Serratia* présentant des pourcentages égaux (16,67%), *Proteus* et *Kluyvera* (6,67% chacun) en enfin *Citrobacter, Enterobacter* et *Hafnia.*

Les résultats de l'antibiogramme ont montré des taux élevés de résistance à l'égard des antibiotiques :ceftazidime (90%), amoxicilline (76,67 %), cotrimoxazole (73,33%), ofloxacine et céfalexine(66,67%), ticarcilline et ciprofloxacine (53,33%). Par ailleurs, 60% des souches ont étémultirésistantes. Néanmoins, l'imipenème et les aminosides restent les antibiotiques les plusefficaces.

Les souches isolées ont présenté des différents profils de résistance, dont la plupart correspondent à trois familles d'antibiotiques, généralement les β- lactamines, les fluoroquinolones et les triméthoprime-sulfamides.

Mots clés : entérobactéries, antibiorésistance, viande hachée.

Remerciements

Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements du fond du cœur à « **Allah** » le tout puissant de nous avoir donné la force la patience, la santé et le courage, qui nous a honorés d'accomplir ce Modest travail.

Nous tenons à remercier également notre promotrice **Dr Machai .M** qui a accepté de nous encadrer et qui nous a toujours guidées dans la réalisation de ce mémoire. Notre profonde gratitude pour sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience, sa bienveillance, et ses conseils merci.

Nous remercions également la présidente **Mme Chadi. H**, d'avoir présidé le jury, et l'examinatrice **Mme Azizi .N** d'avoir accepté d'examiner notre mémoire. Nos vifs remerciements s'adressent également à **Amra Amel**, Pour leurs conseils et encouragement qu'il nous a prodigué. Et a toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie de l'université de Tébessa et surtout Mme **Moufida** et **Warda**.

Dédicace

A mes chers parents, ***Nacer et Moufida****, pour tous leurs sacrifices, leurs amour,*

leurs tendresse, leurs soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs ***kaouther****, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral, ainsi je dédié ce travail a ma chère sueur* ***Imen*** *décédé trop tôt qui ma toujours pousse et motive dans mes études.*

A mes chers frères, ***Chaouki et Chafik****, pour leurs appuis et leurs encouragements.*
A mon oncle ***Abdelkader*** *d'avoir m'aider durant la période de mes études.*

A tonton ***Elhadj Mouici Cherif*** *qui ma encouragé au cour de mon étude universitaire*

A toute ma famille, à mes chères binôme ***Malia*** *et* ***Souha,***

Et a mes amis pour leurs soutiens tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fuit

de votre soutien infaillible.

Merci d'êtres toujours là pour moi.

Menagria Kenza.

Dédicace

A mes parents

Vous êtes dépensé pour moi sans compter. En reconnaissance de tous les sacrifices consentis par vous et chacun pour me

Permettre d'atteindre cette étape de ma vie.

Avec toute ma tendresse.

A mon frère Abdallah à qui je souhaite le bonheur et le succès dans sa vie

A mes chères et adorables sœurs Imane, la prunelle de mes yeux, Nada, la douce, au cœur si grand, Djouhaina que j'aime profondément. En témoignage de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès

A mon fiancé Mokded, qui était toujours présent pour moi, j'espère que Dieu le protège

A mes chères cousines Sirine et Hounaida

A ma Grande mère Fatma que je l'aime

A me chère tantes que j'aime beaucoup : Malika, Dalilla

A tonton Mouméne

A toute ma famille Nemmour et Djoulah

A mes chères binômes kenza et malia

A ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail : Naima, Imane, Shaima, Omaima, Mouna

A mes collègues de ma promotion

A tous les gens que j'aime

SOUHA

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents **Amina** et **Ali** qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A ma chère sœur **imenmalika**

A mes chers frères **Youcef, Tarek et khalilou**

A mes meilleurs amis **Halima, Amira, Safia**

A mes chères binôme **Kenza** et **Souha**

Et ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail, il m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours

A ma famille mes proches et à ceux qui m'aide et me supporté dans les moments difficiles

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès

A tous ceux que j'aime et ce qui m'aime

Malia

Liste des tableaux

Tableau n°	Titre	Page
01	Ordre t'taxonomique des entérobactéries .	**03**
02	Classification d'espèces d'entérobactéries courantes et rares.	**04**
03	Caractères distinctifs biochimique des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées.	**07**
04	Composition de la viande.	**15**
05	Température de croissance des bactéries.	**17**
06	Informations relatives aux échantillons prélevés.	**19**
07	Liste des antibiotiques testés sur les entérobactéries.	**24**
08	Résultats des tests d'identification biochimique réalisée par API 20 E.	**30**
09	Effectif et pourcentage des souches selon les espèces.	**37**
10	Résultats du test de la sensibilité aux antibiotiques.	**40**
11	Effectifs des souches résistantes.	**43**
12	Profils de résistance des souches isolées	**46**
13	Répartition des souches multirésistantes selon l'espèce.	**47**

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	Paroi des bactéries à Gram négatif.	**05**
02	Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae* et différents types d'antigènes.	**08**
03	Modes d'action des antibiotiques.	**13**
04	Galerie API 20 E.	**21**
05	Schéma explicatif de la disposition des disques d'antibiotiques.	**25**
06	Aspect culturaux de quelques isolats sur milieu Mac Conkey .	**27**
07	Aspect macroscopique de quelques isolats sur les milieux SS, DCL et Bismuth	**28**
08	Aspect microscopique de quelques isolats après coloration de Gram.	**29**
09	Identification par l'API 20 E des espèces d'entérobactéries isolées	**33**
10	Répartition des souches en fonction des espèces.	**38**
11	Histogramme représentatif de la résistance aux antibiotiques des souches isolées.	**44**
12	Antibiogramme de la souche E13SS19	**48**

Liste desabréviations

µm	Micromètre
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
Addi	Additionné
ADH	Arginine Dihydrolase
ADN	Acide Désoxyribonucléique
Ag	Antigène
AK	Amikacine
AMX	Amoxicilline
AMY	Amygdaline
API 20 E	Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)
ARA	Arabinose
ARNr	Acide Ribonucléique ribosomique
ATB	Antibiotique
ATM	Aztréonam
AW	Activité de l'eau
BCP	Pourpre de Bromocrésol
BGN	Bacilles à Gram Négatif
BMR	Bactérie multi résistante
CAZ	Ceftazidime
CIP	Ciprofloxacine
CIT	Citrate
CL	Céfalexine
COT	Co-Trimoxazole
CTX	Céfotaxime
CX	Céfoxitine
C1G	Céphalosporines première Génération
C2G	Céphalosporines deuxième Génération
C3G	Céphalosporines troisième Génération
DCLS	Desoxycholate- Lactose-Sucrose
DHFR	Dihydrofolate Réductase
DHPS	Dihydroptéroate Synthétase
DO	Densité Optique
ECA	Enterobacterial Common Antigen
GEL	Gélatinase
GLU	Glucose
GN	Gélose Nutritive
GEN	Gentamicine
H_2S	Sulfure d'Hydrogène
I	Intermédiaire
INO	Inositol

IND	Indole
IPM	Imipénéme
LDC	Lysine Décarboxylase
LPS	Lipopolysaccharides
MAN	Mannitol
MC	Mac Conkey
MEL	Melibiose
MH	Mueller-Hinton
NO_2	Nitrite
ODC	Ornithine Décarboxylase
OF	Ofloxacine
ONPG	Orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside
PAB	Acide Para-aminobenzoique
PDA	Phénylalanine Désaminase
PLP	Protéines Liant les Pénicillines
PRL	Pipéracilline
R	Résistante
RHA	Rhamnose
S	Sensible
SS	*Salmonella- Shigella*
SAC	Saccharose
SFB	Sélénite F Broth
SOR	Sorbitol
spp	Plusieurs espèces non identifiées
TC	Ticarcilline
TTC	Ticarcilline+Acideclavulanique
TDA	Tryptophane Désaminase
URE	Urée
USA	États Unis d'Amérique
VP	VogesProskauer

Table de matière

ملخص
Abstract
Résumé
Table de matière
Remerciements
Dédicace
Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures
Introduction **01**

Partie 01: Revue bibliographique

I. Entérobactéries

1. **Définition** **03**
2. **Habitat** **03**
3. **Taxonomie** **03**
4. **Paroi** **05**
5. **Caractères culturaux** **06**
6. **Caractères biochimiques** **07**
7. **Caractères antigéniques** **07**
8. **Principaux genres** **08**
    - **8.1. *Escherichia*** **08**
    - **8.2.*Klebsiella*** **09**
    - **8.3.*Enterobacter*** **09**
    - **8.4.*Salmonella*** **10**
    - **8.5.*Shigella*** **10**
    - **8.6.*Citrobacter*** **11**
    - **8.7.*Yersinia*** **11**
    - **8.8.*Serratia*** **12**

II. Antibiotiques

1. **Définition** **13**
2. **Modes d'action** **13**
3. **Résistance aux antibiotiques** **13**
4. **Types de résistance** **14**
    - **4.1. Résistance naturelle** **14**
    - **4.2. Résistance acquise** **14**
5. **Mécanismes de résistance aux antibiotiques** **14**

III. Viande

1. **Définition** **15**
2. **Composition** **15**
3. **Viande hachée** **15**
4. **Nature des microorganismes des viandes de boucherie** **15**

5. Source de contamination de viandes 16
6. Conditions de la multiplication des microorganismes 17

Partie 02: Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Objectifs et cadre d'étude 19
2. Matériels et méthodes 19
2.1. Prélèvement 19
2.2. Pré-enrichissement 20
2.3. Isolement des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines 3ème génération 20
2.4. Recherche des *Salmonella* 20
2.4.1. Enrichissement 20
2.4.2. Isolement 20
2.5. Identification préliminaire des isolats par un examen macroscopique et microscopique 20
2.6. Conservation des isolats 21
2.7. Identification biochimique 21
2.8. Test de l'antibiogramme 23

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Examen macroscopique 27
2. Examen microscopique 28
3. Identification biochimique 29
4. Répartition des souches selon les espèces 36
5. Résistance aux antibiotiques 39
5.1. Résultats de l'antibiogramme 39
5.2. Taux des souches résistant, intermédiaires et sensibles 43
5.3. Profils de résistance 45
5.4. Souches multirésistantes 47
Conclusion 50
Références bibliographiques
Annexes

Introduction



Introduction

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif (BGN) **[1],** qui constituent une part importante des bactéries isolées lors du diagnostic bactériologique des infections humaines. Elles peuvent être responsables de plusieurs types d'infections principalement les infections urinaires et les infections digestives **[2].**

Actuellement, le traitement des infections dues aux entérobactéries connait des difficultés, à cause du phénomène de la résistance aux antibiotiques qui n'est pas du tout récent. La situation est d'autant plus alarmante pour les entérobactéries dont la prolifération de leur résistance est en évolution très rapide, posant ainsi un grave problème de santé publique à l'échèle mondiale. L'utilisation massive ou inappropriée des antibiotiques, en médecine humaine ou en médecine vétérinaire, est en effet une cause majeure de l'émergence de ce phénomène **[3].**

En médecine vétérinaire, les antibiotiques sont utilisés comme facteurs de croissance ou à des fins thérapeutiques. De ce fait, la résistance aux antibiotiques peut évoluer chez la microflore hébergée par l'animal et par conséquent, elle pourrait évoluer également dans les produits alimentaires issus de cet animal comme les viandes et le lait.

Dans ce contexte, notre travail porte sur l'évaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à partir de la viande hachée commercialisée dans la ville de Tébessa. La viande hachée est une denrée fréquemment impliquée dans les infections d'origine alimentaire, parmi lesquelles les infections liées aux entérobactéries.

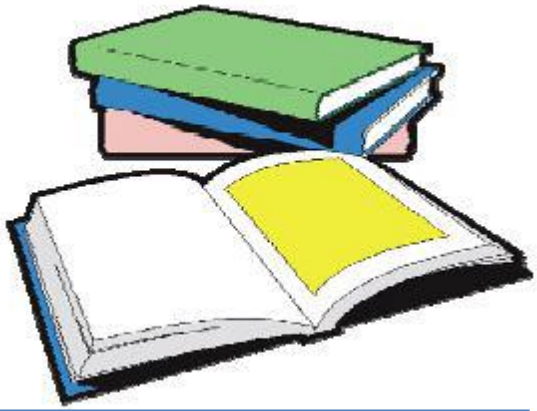
Les objectifs de ce travail sont donc:

1) Isolement et identification des souches des entérobactéries isolées de viande hachée
2) Détermination des taux de résistance et multirésistances des souches isolées aux différents antibiotiques testés.

Notre manuscrit est présenté en trois chapitres :

- Le premier chapitre, inclura un bref rappel sur le groupe des entérobactéries et les principaux genres incriminés en pathologie humaine, ainsi qu'un aperçu sur les antibiotiques, leurs modes d'action et les mécanismes de résistance développées par les bactéries, et enfin une petite partie présentera la microflore de la viande hachée et les différentes origines de sa contamination.

- Le deuxième chapitre, décrira le matériel et les méthodes employées pour l'isolement des entérobactéries à partir de la viande hachée, leur identification biochimique et leur antibiogramme standard.
- Le troisième chapitre sera réservé à la présentation des résultats obtenus et leur discussion.



Partie 01

Revue bibliographique

I.Entérobactéries

1. Définition

Les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène regroupant un grand nombre d'espèces au niveau phénotypique, ce sont des bacilles à Gram négatif (BGN), de diamètre 0,5 µm sur 3 µm, droits, mobiles par ciliature péritriche chez la majorité des Entérobactéries courantes (*Escherichia, Proteus, Salmonella*) ou immobiles (*Klebsiella, Shigella* spp, *Yersinia*), non sporulés, aéro-anaérobies, fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et réduisent le nitrate en nitrite (sauf quelques *Erwinia*) **[1] [4].**

2. Habitat

Le nom d'entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, suivant les espèces microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux. Mais ce caractère écologique n'est pas exclusif des Entérobactéries pouvant proliférer en abondance dans l'environnement (sols et eaux) et participer aux grands cycles de dégradation des matières organiques **[2].**

3. Taxonomie

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma *Enterobacteriaceae.* Actuellement, les entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARNr 5S et 16 S selon le **tableau 01.**

Tableau 01 : Ordre taxonomique des entérobactéries.

Domaine	Phylum XII	Classe	Ordre	Famille
Enterobacteria	*Proteobacteria*	*Gamma proteobacteria*	*Enterobacteriales*	*Enterobacteriaceae*

On dénombre 53 genres et plus de 170 espèces; certains genres comme *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Shigella et Yersinia* sont plus fréquemment isolés en bactériologie clinique **[5].**

Tableau 02 : Classification d'espèces d'entérobactéries courantes et rares [6].

	Genres	Espèces
Entérobactéries Courantes	*Escherichia*	Six espèces: *Escherichia coli...*
	Salmonella	*Salmonella bongori, S. enterica, S. subterranean...*
	Shigella	Quatre espèces : *Shigella dysenteriae, S. flexneri, S. sonnei, S. boydii.*
	Citrobacter	Douze espèces : *Citrobacter freundii, C. youngae, C. braakii, C. koseri...*
	Klebsiella	Quatre espèces : *Klebsiella pneumoniae, K. pneumoniae subsp. ozaenae...*
	Enterobacter	Quatorze espèces : *Enterobacter aerogenes, E. cloacae, E. sakazakii...*
	Hafnia	Espèce unique *: Hafnia alvei*
	Serratia	Onze espèces *: Serratia marcescens subsp. marcescens, S. odorifera, S. rubidaea...*
	Proteus	Six espèces : *Proteus vulgaris, P. mirabilis, P. penneri...*
	Morganella	Une espèce : *Morganella morganii subsp. Morganii*
	Providencia	Cinq espèces : *Providencia alcalifaciens, P. stuartii, P. rettgeri...*
	Yersinia	*Onze espèces : Yersinia pestis, Y. enterocolitica subsp. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis...*
	Erwinia	Onze espèces
Entérobactéries rare ou récemment décrites	*Cedecea*	
	Ewingella	
	Pantoea	
	Rahnella	
	Budvicia	
	Buttiauxella	
	Kluyvera	
	Leclercia	
	Moellerella	
	Trabulsiella	
	Yokenella	
	Edwardsiella	
	Leminorella	
	Obesumbacterium	
	Pragia	
	Photorhabdus	
	Tatumella	
	Xenorhabdus	

4. Paroi

La paroi est composée de la membrane externe et de l'espace périplasmique **(Figure 1)**; ce dernier est constitué d'un élément majeur, le peptidoglycane; on y trouve également les PLP (protéines liant les pénicillines), cibles des antibiotiques comme les β-lactamines.

Cette paroi donne sa forme aux bactéries; elle constitue une interface d'échanges avec le milieu extérieur et surtout les protègent contre toutes agressions extérieures.

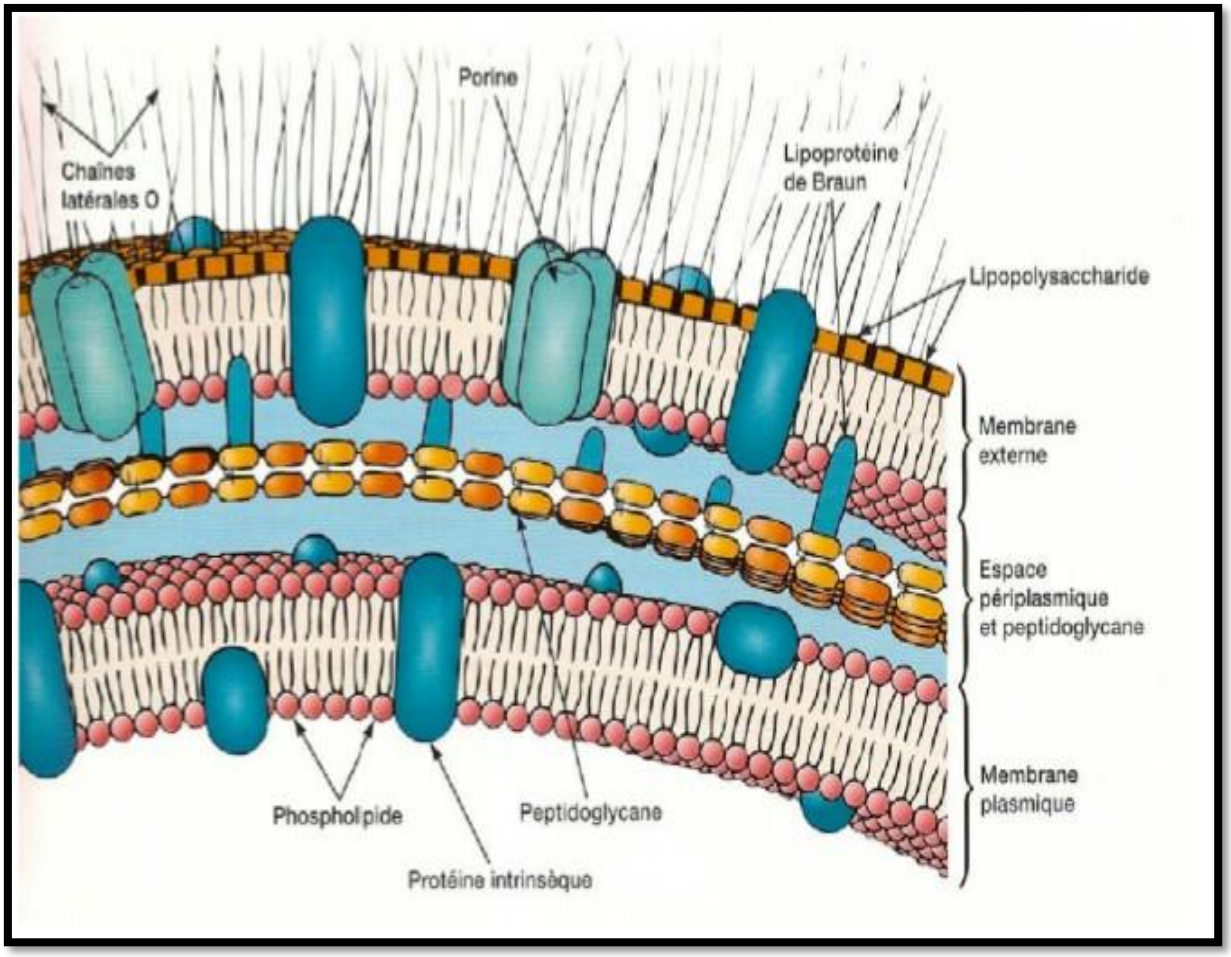


Figure 01 : Paroi des bactéries à Gram négatif [7].

4.1. Espace périplasmique

Il correspond à la zone située entre la membrane externe et la membrane plasmique. Il comprend notamment le peptidoglycane et les PLP.

- **Peptidoglycane**

Contrairement aux bactéries Gram positif, les BGN comme les Entérobactéries possèdent une couche mince de peptidoglycane, qui représente 5 à 10 % du poids de la paroi.

- **Protéines liant les pénicillines**

Ce sont des enzymes (transpeptidases et carboxypeptidases) associées à la face externe de la membrane cytoplasmique, leur rôle est d'assurer la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes sont la cible des antibiotiques comme les ß- lactamines.

4.2. Membrane externe

La membrane externe est la couche externe de l'enveloppe bactérienne. Elle sert de barrière de protection contre les antibiotiques et d'autres substances toxiques susceptibles de lyser ou d'endommager la bactérie et elle empêche la perte des constituants comme les enzymes périplasmiques.

- **Porines**

Elles représentent l'un des constituants de la membrane externe. Elles sont constituées par l'assemblage de 3 protéines qui s'insèrent au sein de la membrane, formant ainsi des canaux étroits au sein desquels pourront traverser de nombreux antibiotiques actifs sur les entérobactéries.

- **Lipopolysaccaharides**

Ils constituent un élément majeur de la membrane externe. Ils sont constitués par trois éléments: le lipide A, les polysaccharides centraux et la chaine latérale O **[7].**

5. Caractères culturaux

Les Entérobactéries se développent rapidement sur des milieux ordinaires, en particulier le milieu de Mac Conkey ou BCP (pourpre de bromocrésol) et la gélose SS (*Salmonella- Shigella*) ; dont le temps de division moyen varie de 20 à 40 min. Elles sont facilement cultivables sur de milieux de culture à pH neutre, dans un intervalle de (18-24 h) **[8].**

La température optimale de croissance est de 35 à 37 °C, à l'exception des *Yersinia* (30-37°C), des *Erwinia* (27-30°C) mais la culture est possible entre 20 et 40 °C **[7] [9].**

Sur gélose, on peut obtenir différentes formes :

- Les formes S (smooth) : les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles ont 2 à 4 mm de diamètre.
- Les formes R (rough) : les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teint mate, elles s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages **[10].**

6. Caractères biochimiques

Les principaux genres d'entérobactéries peuvent être distingués par certains caractères biochimiques **(tableau 03) [11].**

Tableau 03 : Caractères distinctifs biochimiques des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées [11].

	Escherichia	*Citrobacter*	*Enterobacter*	*Klebsiella*	*Serratia*	*Salmonella*	*Shigella*	*Proteus*	*Providencia*	*Yersinia*
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP (Acétoïne)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+*
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+*
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H_2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

* à 20°C seulement

ONPG : Ortho **N**itro **P**hényl **G**alactopyranoside, **VP : V**oges **P**roskauer, **PDA: P**hénylalanine **D**ésaminase

7. Caractères antigéniques

Les entérobactéries possèdent différents antigènes; on distingue surtout les antigènes (Ag) O, H et plus rarement K.

- **Antigènes O ou somatiques:** Ag de paroi toujours présents, correspondent aux polyosides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS), très toxiques, ils sont thermostable**s** (résistants 2 heures à un chauffage à 100 °C) et à l'alcool **[9] [12].**
- **Antigènes H ou flagellaires:** constitués de protéine spécifique dénommée flagelline, ils sont thermolabiles **[9],** détruits par l'alcool à 50 % et par les enzymes protéolytiques, ils n'existent que chez les souches mobiles **[13].**
- **Antigènes K ou capsulaires:** généralement constitués d'une couche externe de polysaccharides, thermolabiles qui entourent la paroi de certaines entérobactéries **[14] [15] [16].**

- **Antigéne de kunin** : Ag commun dénommé ECA (*Enterobacterial* common Antigen). Il n'existe que chez les entérobactéries et, de ce fait, a un intérêt taxonomique. Sa présence chez les *Yersinia* a permis d'inclure ce genre dans la famille des entérobactéries **[17].**

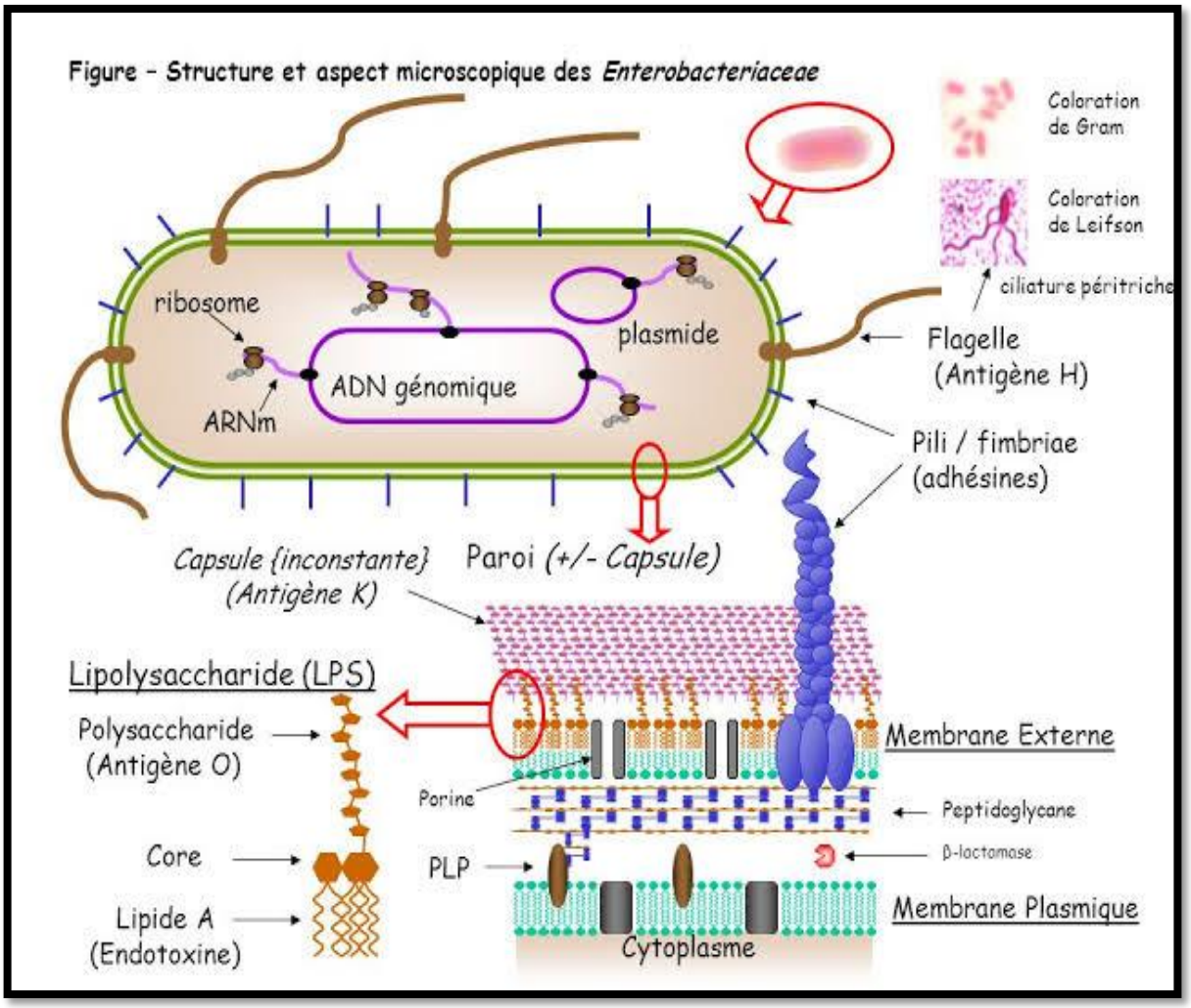


Figure 02 : Structure et aspect microscopique des *Entérobacteriaceae* et différents types d'antigènes [18].

8. Principaux genres

8.1. *Escherichia*

Il comprend 5 espèces: l'espèce type est *E. coli* qui représente la quasi-totalité des isolats humains **[18].** C'est une bactérie assez grande (1-1,5 sur 2-6 µm), isolée par Escherich en 1885**[19].**

- **Habitat**

E .coli fait partie de la microflore intestinale de tous les animaux, y compris les humains. C'est un commensal de l'intestin; il représente 80% de la flore intestinale aérobie.

Il se trouve en abondance dans les matières fécales à raison de 10^8 germe / g de fèces. De là, il se répand dans la nature: sol et eaux. Sa présence dans le milieu environnant signe toujours une contamination fécale **[20].**

- **Pouvoir pathogène**

Chez l'homme, la colonisation par *E .coli* peut être responsable d'un nombre varié de pathologies comme les infections urinaires, les infections digestives (diarrhée, infections hépatobiliaires), les méningites néonatales et les septicémies **[21].**

8.2. *Klebsiella*

Le nom *Klebsiella* provient du nom du bactériologiste Klebs en 1877 **[22].** Il s'agit d'un bacille immobile, de 0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6 µm de longueur, d'aspect muqueux des colonies.

- **Habitat**

C'est une bactérie ubiquitaire, fréquemment isolée de l'environnement (eau usées, sol) et de la flore commensale du tube digestif et des voies respiratoires supérieures **[19].**

- **Pouvoir pathogène**

Chez l'homme *K. oxytoca* et *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* sont responsables d'infections diverses: infections suppuratives, infections biliaires, infections hépatiques, infections intra-abdominales. Certaines souches de *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* sont responsable des diarrhées chez le jeune enfant **[23]** et des infections respiratoires, urinaires au deuxième rang après *E. coli* **[12].**

8.3. *Enterobacter*

Selon le manuel de Bergy's, le genre *Enterobacter* proposé par Hormaeche et Edward en 1960. Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles droits de 0,6 à 1 µm de diamètre sur 1,2 à 3 µm de longueur, ils se présentent de manière isolée, groupée ou en courtes chainettes **[24].**

- **Habitat**

Les espèces du genre *Enterobacter* peuvent être trouvées dans l'environnement naturel tel que le sol, l'eau et la végétation, également dans une vaste gamme de produits alimentaire (viande, poissons, œufs, produits laitiers et confiseries) **[3]** ou commensales du tube digestif de l'homme et des animaux **[25].**

- **Pouvoir pathogène**

Enterobacter est un pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier surtout, d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses **[25]** et des infections respiratoires, des endocardites et des infections intra abdominales **[26].**

8.4.*Salmonella*

Le premier bacille de *Salmonella* agent de la fièvre typhoïde fut observé en 1880 par Eberth dans des coupes de rate et de ganglion lymphatique. La culture in vitro de cette bactérie fut mise au point par Gaffky en 1884. Cette bactérie est de2 à 5 µm de longueur et de 0,7 à 1,5 µm de largeur,elle est mésophile et mobile grâce à des flagellespéritriches.Les colonies sont généralement rondes, lisses et ont un diamètre de 2 à 3 mm**[28] [29].**

- **Habitat**

Le réservoir naturel est constitué par le tube digestif des espèces contaminées: mammifères (y compris l'homme), volailles, reptiles, escargots, grenouilles, animaux de compagnie (chiens et chats)… etc. Les déjections de ces espèces peuvent contaminer le sol et/ou l'eau **[1].**

- **Pouvoir pathogène**

Les salmonelles peuvent donner lieu à trois types de manifestations cliniques :

- Des formes bactériémiques, strictement humaines, qui sont les fièvres typhoïde et paratyphoïde dues à *Salmonella Typhi* et *Salmonella Paratyphi* (A, B et C). Ces maladies sont à déclaration obligatoire **[30].**
- Des toxi-infections alimentaires donnant lieu à des gastro-entérites dues à tous les autres sérovars mais également à *Salmonella Paratyphi* B et C.
- Des manifestations extra-digestives **[31].**

8.5.*Shigella*

Ces bactéries furent décrites la première fois par Chantemesse et Widal en 1888, qui les avaient isolé des sels de malade présentant un syndrome dysentérique**[1].** Ce genre nommé *Shigella* en l'honneur du bactériologiste japonais Kijoshi SHIGA qui a découvert le bacille de la dysenterie en 1897 **[32].** Ce sont des bactéries immobiles et non capsulées, elles sont très prochesd'*E.coli***[33] [34].**

- **Habitat**

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines, elles ne font pas partie de la flore intestinale normale; on ne les retrouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains. Elles peuvent survivre relativement longtemps dans les milieux externes: 10-11 jours dans les matières fécales, 8 jours sur les vêtements des malades et 2-3 jours dans l'eau **[35].**

- **Pouvoir pathogène**

Les shigelles provoquent chez l'adulte des colites infectieuses et chez l'enfant de gastro-entérites sévères avec diarrhée mucopurulente et sanglante, fièvre et déshydratation **[5].** Les moins rares maladies sont des infections urinaires, des formes bactériémiques, des arthrites et des méningites **[36].**

8.6.*Citrobacter*

Ce sont des entérobactéries ayant en commun la capacité d'utiliser le citrate comme seule source de carbone

- **Habitat**

Les *citrobacter* sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux qu'on peut isoler des urines et des sécrétions respiratoires.

- **Pouvoir pathogène**

Les *Citrobacter* sont des pathogènes opportunistes, qu'on peut isoler au cours d'infections urinaires ou pulmonaires. Elles ont été signalées comme responsables de méningo-encéphalites néonatales. Mais elles sont rarement responsables d'infections sauf chez les sujets immunodéprimés **[9].**

8.7.*Yersinia*

Anciennement appelées *Pasteurella,* les *Yersinia* ont été incluses dans la famille des entérobactéries en 1974 **[9].** Ces bactéries ont une croissance plus lente que celle des autres entérobactéries, elles ont toutes un tropisme pour les tissus lymphoïdes, ce genre comprend 3 espèces pathogènes pour l'homme **[37] [38].**

- **Habitat**

Yersinia est une bactérie ubiquitaire, qu'on peut trouver dans l'environnement (eau, sol) ou chez les animaux (rongeur, porc … etc.).

- **Pouvoir pathogène**

Yersinia est responsable d'entérocolite chez le jeune enfant, d'adénite mésentérique chez l'adolescent et l'adulte jeune. Les formes septicémiques sont plus rares et surviennent sur un terrain fragilisé, immunodéprimé et des manifestations cliniques variées ont été décrites (abcès profonds, endocardite, méningite ….) **[1].**

8.8.*Serratia*

Ce sont des bactéries très protéolytiques, liquéfiant la gélatine, et produisent une lipase.On distingue 10 espèces dans ce genre **[38].**

- **Habitat**

D'une manière générale, les espèces du genre *Serratia* sont isolées des plantes (légumes,champignons), on les trouve aussi dans le tube digestif de l'homme, des rongeurs, des insectes, ainsi que dans le sol et l'eau. *Serratia* est capable aussi de se développer sur des aliments tels que le pain, la viande et le lait **[39].**

- **Pouvoir pathogène :**

Les espèces de *Serratia* sont des agents pathogènes opportunistes. Elles sont à l'origine d'une multitude d'infections, dont la bactériémie, la pneumonie, les infections liées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite, l'endocardite **[40].**

II. Antibiotiques

1. Définition

Les antibiotiques sont des molécules à activité antibactérienne, capable de détruire les microorganismes ou du moins de limiter de manière significative leur multiplication. Ils sont soit d'origine biologique (β-lactamines, aminosides, macrolides, polypetides), semi-synthétiques ou synthétiques (sulfamides, quinolones).

2. Modes d'action

Les ATB agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (synthèse protéique, synthèse des acides nucléiques, synthèse de la paroi, réplication, transcription, désorganisation de la membrane) **[41]. (Figure 03)[42].**

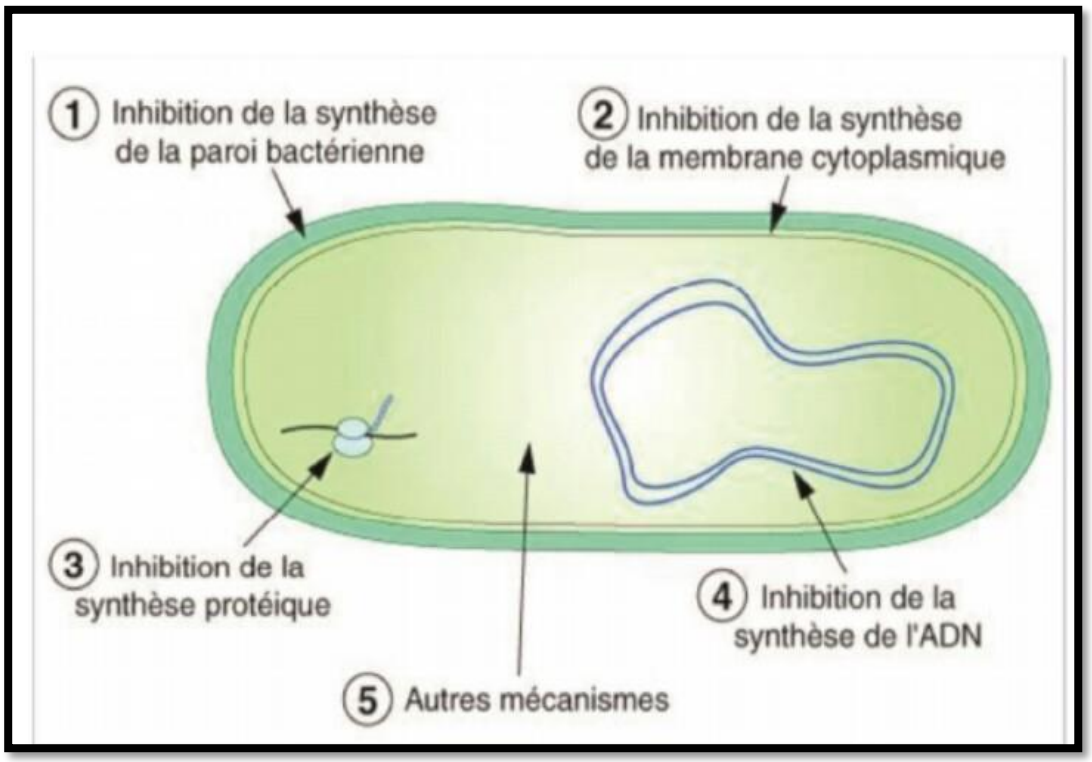


Figure 03: Mode d'action des antibiotiques.

3. Résistance aux antibiotiques

D'un point de vue strictement bactériologique, une souche bactérienne devient résistante lorsqu'elle peut croitre en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe normalement les souches sensibles de l'espèce **[1]**

4. Types de résistance

Les entérobactéries sont soit naturellement résistantes soit elles ont une résistance acquise :

4.1. Résistance naturelle

Son mécanisme sur le génome bactérien est constant dans un taxon et est généralement chromosomique. Elle correspond à la résistance de toutes les souches d'une même espèce bactérienne à un antibiotique. Elle est due soit à une absence de cible pour l'antibiotique soit à une imperméabilité de la paroi à cet antibiotique.

4.2.Résistance acquise

Le terme de résistance acquise est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une famille originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance est déterminée par des modifications génétiques consistant à des mutations sur des gènes déjà présents chez la bactérie (résistance par mutation chromosomique), ou en l'acquisition de nouveaux gènes de résistance par transfert horizontal (résistance extra-chromosomique) **[43].**

5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Bien que plusieurs mécanismes soient impliqués dans les résistances acquises de certaines espèces bactériennes à certains antibiotiques, les suivants sont communément décrits:

- **Diminution de la perméabilité**

L'absence de perméabilité de la paroi est un phénomène de résistance naturelle chez certaines espèces mais peut survivre chez des espèces sensibles à la suite d'une mutation chromosomique. L'altération des porines suite à une mutation chromosomique diminue le passage des molécules et réduit la sensibilité des bactéries à certains antibiotiques.

- **Modification du site d'action**

Si la cible d'action d'antibiotique a subit une altération par une mutation, l'antibiotique est incapable de se fixer ou se fixe mal à cette molécule modifiée. Par conséquent son action inhibitrice ou destructrice est limitée ou annulée.

- **Inactivation de l'antibiotique par les enzymes bactériennes**

Elle consiste en la production d'une enzyme spécifique qui détruit ou modifie l'antibiotique en donnant des dérivés inactifs sur la bactérie.

- **Substitution de la cible d'action des antibiotiques :**

Ce système consiste en un développement d'une voie métabolique visant à remplacer la voie bloquée par l'antibiotique **[44].**

III. Viande

1. Définition

Selon l'organisation mondiale de la santé animale, la viande correspond à tous les corps d'animaux comestibles qui n'ont été soumis à aucun traitement. La viande est donc une chair des mammifères et des oiseaux dont l'homme se nourrit **[45].**

2. Composition

La viande, par sa grande valeur nutritive, reste un aliment très prisé. Elle est riche en nutriments, notamment en acides aminés essentiels qui font d'elle un aliment quasi irremplaçable **[46].**

Tableau 04 : Composition de la viande [47].

Compositions	Pourcentage
Eau	75-80 %
Protéines	15-20%
Substances azotées non protéiques	10 %
Lipides	3 %
Glycogène	1 %
Sels minéraux	1 %

3. Viande hachée

C'est la viande qui est soumise à une opération de hachage en fragment ou à un passage dons un hachoir, à laquelle a été éventuellement ajouté un maximum de 1 % de sel. Tout ajout d'eau est un interdit **[45].**

4. Nature des microorganismes des viandes de boucherie

La microflore de contamination des viandes et des produits à base de viande comprend essentiellement les microorganismes saprophytes, les microorganismes tests d'hygiène et éventuellement une flore pathogène responsable des maladies.

- **Microorganismes saprophytes et microorganismes tests d'hygiène**

Les microorganismes saprophytes constituent l'essentiel de la microflore de contamination des viandes et des produits à base de viande. Parmi les bactéries saprophytes isolées des viandes

hachées : P*seudomona*s, *Acinetobacter* et *Micrococcus ;* il y a ensuite, les Entérobactéries et enfin, les *Bacillus*, *Mycobacterium*et *Clostridium.*

Parmi les bactéries saprophytes les hygiénistes font une place à *E .coli*, aux coliformes fécaux et entérocoques en général. Ces bactéries sont considérées comme provenant directement du tube digestif. Cependant *E .coli* demeure actuellement le seul et le plus sûr des microorganismes tests à utiliser en hygiène publique. Son dénombrement est rendu obligatoire pour toutes les entreprises commercialisant la viande Aux USA.

- **Micro-organismes pathogènes**

Les germes pathogènes qui contaminent les viandes et responsables de toxi-infections alimentaires sont en général *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica, Shigella* et *E .coli* O 157 :H7 **[46].**

5. Sources de contaminations des viandes

Les viandes sont inévitablement polluées à la sortie de l'abattoir et des ateliers de découpe, dans leur profondeur mais surtout à leur surface.

- **Contamination du muscle avant la mort (contamination profonde)**

La contamination ante mortem est toujours limitée. Les animaux malades sont en effet systématiquement éliminés par les services vétérinaires lors des contrôles ante et post mortem. Par contre, il arrive que des animaux apparemment sains hébergent notamment dans leur tube digestif des germes dangereux, en particulier des salmonelles qui lors d'agression (mauvaises conditions d'abattage, accident …etc.) passent dans le muscle.

Le tube digestif ne constitue pas la seule source de contamination ; il semblerait que certaines bactéries puissent pénétrer dans l'organisme d'animaux vivants apparemment sains soit au niveau de lésions, soit au niveau de muqueuses.

- **Contamination post mortem (contaminations profonde et superficielle)**

L'essentiel des microorganismes est apporté au cours de l'abattage et au cours de la préparation des carcasses par: l'environnement, les matières fécales, la peau, les instruments et les manipulateurs.

La contamination profonde est généralement peu importante dans le cas d'animaux sains abattus dans de bonnes conditions, de l'ordre de 1 germe par 10 g et le plus souvent 1 germe par

100 g. Une contamination non négligeable des carcasses par les bactéries intestinales peut prendre place plusieurs heures après la mort lorsque la paroi intestinale fragilisée permet l'entrée de ces bactéries **[48].**

- **Contamination au cours du stockage et de la commercialisation**

Toute variation dans les conditions de stockage et de commercialisation va entrainer la prolifération des microorganismes contaminants. Lors de la commercialisation, des contaminations par l'air, les surfaces, les vendeurs et le personnel de service sont encore possibles.

- **Contamination au cours du transport**

Le transport implique des changements des conditions, sources éventuelles de variation dans les températures et dans l'humidité relative.

- **Contamination lors de la découpe**

On a constaté que les erreurs d'hygiène graves dans les conditions de travail telles que la température trop élevée dans les salles de découpe, le nettoyage insuffisant du matériel et des tenues vestimentaires des travailleurs favorisent la prolifération des bactéries **[46].**

6. Conditions de la multiplication des microorganismes

- **Température**

L'évolution des microorganismes sur les surfaces des viandes dépend d'un certain nombre de paramètres dont le plus important est la température. En règle générale, les germes se multiplient d'autant plus lentement que la température est basse. La majorité des microorganismes prolifèrent à des températures moyennes supérieures ou égale à + 20 °C. La température de croissance des bactéries est indiquée dans le tableau.

Tableau 05 : Température de croissance des bactéries

Groupe	Températureminimale	Températureoptimal	Températuremaximale
Psychrophiles	-15 °C	15 à 20 °C	25 °C
Psychotropes	0 à 5 °C	25 à 35 °C	37°C
Mésophiles	10 à 20 °C	37°C	45°C
Thermophiles	25 à 45 °C	50 à 55°C	65 à 90 °C

- **Activité de l'eau (AW)**

L'eau est indispensable pour le développement des microorganismes. L'exigence en cette eau varie avec les espèces. En général, plus l'AW est élevé, plus la croissance de la microflore est

intense. La plupart des bactéries ont un optimum de croissance autour de 0,990 à 0,995, ce qui correspond bien à l'AW de la viande.

- **PH**

Le PH du muscle décroit progressivement après l'abattage et passe de sa valeur physiologique de 7,0 à 7,2 à une valeur voisine de 5,3 à 5,8 selon l'espèce animale considérée et au sein d'une même espèce, selon le muscle considéré. Les bactéries se développent sur des milieux dont le pH varie de 4,5 à 9 avec un optimum de 6,5 à 7,5. On observe tout de même une forte réduction de la croissance microbienne, pour tout abaissement de ce paramètre.

- **Facteurs nutritionnels**

La plupart des microorganismes se développant sur les viandes car ils y trouvent l'ensemble des nutriments nécessaires pour leur croissance. Les glucides simples et les acides aminés, entrent dans la composition d'un grand nombre d'aliments et sont largement utilisés par une grande variété de micro-organismes comme source de carbone et d'énergie **[48].**

- **Tension d'Oxygène**

La croissance en anaérobiose est plus lente que la croissance en aérobiose. La viande hachée étant une denrée suffisamment aérée, favorise la multiplication des germes aérobies **[45].**



Partie 02

Partie expérimentale



Chapitre I

Matériels et méthodes

1. Objectifs et cadre d'étude

Notre travail a été réalisé durant la période qui s'étend de Janvier jusqu'au moins d'avril 2019 au niveau de laboratoire de microbiologie, département de biologie appliquée à l'université de Tébessa. Il porte sur des viandes hachées commercialisés dans la ville de Tébessa, dans l'objectif d'évaluer les résistances aux antibiotiques des souches d'enterobacteries isolées à partir de ces viandes.

2. Matériels et méthodes

2.1. Prélèvement

Durant la période d'étude, 15 échantillons ont été prélevés à partir de différentes boucheries, selon le tableau ci-dessous. Un échantillon de 100g a été aseptiquement prélevé dans un sac plastique stérile et transporté au laboratoire dans un délai ne dépassant pas les 2 heures.

Tableau 06: Informations relatives aux échantillons prélevés.

N° d'échantillon	Date de prélèvement	Site de prélèvement
01	10 02 2019	Cité Beb Zayatine
02	17 02 2019	Rue de Constantine
03	24 02 2019	Le grand Marché
04		
05	25 02 2019	Rue de Constantine
06	03 03 2019	Le grand Marché
07	06 03 2019	Draa el imam
08		Cité El wiam
09	07 03 2019	Larmoute
10	19 03 2019	Cité Houari Boumediene
11		Porte de Caracalla
12		Le grand Marché
13		Cité Houari Boumediene
14		Porte de Caracalla
15		Le grand Marché

2.2. Pré- enrichissement

Au laboratoire, près du bec Bunsen :

- Peser aseptiquement 25 g de viande dans une boite de Pétri, puis les transférer dans un mortier stérile.
- Broyer la viande, en ajoutant progressivement 225ml de bouillon tryptone-sel, jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.
- Laisser le broyat reposer pendant 15 à 45 minutes à température ambiante.
- Transférer le broyat dans un flacon stérile.
- Incuber pendant 18 à 24 heures à 37 °C.

2.3. Isolement des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération (C3G)

Après incubation, préparer une dilution dans 9ml de tryptone- sel. Prélever 0,1 ml de la suspension et de la dilution ainsi préparée à l'aide d'une micropipette et l'ensemencer à la surface de deux boites de gélose Mac Conkey (MC) additionnée de 2 mg/ litre de cefotaxime (CTX) **[49].** Étaler à l'aide d'un râteau et incuber pendant 24 à 48 h à 37 °C.

2.4. Recherche des *Salmonella*

2.4.1. Enrichissement

- 0,5 ml de bouillon du pré-enrichissement est inoculé dans 5 ml du bouillon SFB (Selenite F Broth).
- Incuber le bouillon SFB pendant 24 à 48 à 37 °C.

2.4.2. Isolement

- À l'aide d'une pipette Pasteur, prélever à partir du bouillon SFB et faire des striesà la surface de deux boites de l'un des milieux DCLS (desoxycholate- lactose-sucrose), SS (*Salmonella-Shigella*) ou bismuth-sulfite.
- Incuber pendant 24 à 48 h à 37 °C, jusqu'à l'apparition des colonies.

2.5. Identification des isolats par un examen macroscopique et microscopique

Après incubation, repérer les colonies suspectes sur les différents milieux :

- **MC (addi à CTX)** : les entérobactéries donnent sur ce milieu des colonies rouges/ roses (lactose +) ou des colonies jaunes/ incolores (lactose -), de forme rond (régulière ou irrégulière) généralement de taille grand, parfois crémeuse et laiteuse
- **DCLS**: les colonies jaunes ou incolores (lactose -) avec ou sans centre noir sont suspectes d'être *Salmonella.*

- **SS**: les colonies incolores (lactose -) avec ou sans centre noir sont suspectes d'être *Salmonella* **[50].**
- **Bismuth :** les colonies vertes transparentes avec ou sans centre noir sont suspectes d'être *Salmonella* **[51].**

Après l'examen macroscopique on fait la coloration de Gram **(voir annexe B),** pour toute colonie suspecte. On retient seulement des colonies ayant données des bacilles à Gram négatif (BGN).

2.6. Conservation des isolats

Après purification, la conservation se fait par repiquage à partir des isolats purs sur gélose nutritive (GN) inclinée, en faisant des stries serrées. Après incubation pendant 24 h à 37 °C, conserver les tubes au réfrigérateur ou à température ambiante.

2.7. Identification biochimique

L'identification biochimique des isolats de BGN ainsi conservés est réalisée par la galerie API 20 E.

a) Principe et description de la galerie API 20 E

La galerie API 20 E (Analytical profile index), est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif. Elle comporte 20 micro-tubes**(Figure 04),** contenant des substrats sous forme déshydratée, ces micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.



Figure 04 : Galerie API 20E.

b) Mode opératoire

- **Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum**

- Préparer une suspension bactérienne dense dans 10 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h, faite sur GN.

- **Ensemencement de la galerie**

- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile pointe, appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles d'air.
- Pour les caractères soulignés: ADH, LDC, ODC, H_2S, URE, ensemencer le tubule par la suspension et la cupule par l'huile de vaseline stérile.
- Pour les caractères encadrés VP, CIT, Gel, ensemencer le tubule et la cupule par la suspension.
- Pour les caractères non encadrés, non soulignés ensemencer uniquement le tubule par la suspension.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 heures.

c) **Lecture**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture **(Voir annexe D).**

- Si 3 tests ou plus (test GLU + ou –) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs:

Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

Test IND : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

Test Glu : ajouter une goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2 dans le tube GLU. Attendre 2-5 minutes, une coloration rouge indique une réaction positive (NO_2).Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote. Dans ce cas, ajouter 2-3 mg de poudre de zinc dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté jaune indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats. Si la cupule devient orange-rouge, la réaction est négative, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zn.

- Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à trois, réincuber la galerie 24 heures (plus ou moins 2 heures) de plus sans rajouter les réactifs **[52].**

d) Interprétation des résultats

L'identification a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification (feuille Excel pour l'identification microbienne).

2.8. Test de l'antibiogramme

Il a été réalisé selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, méthode des disques (Antibiogramme standard).

a) Principe

L'antibiogramme regroupe différentes techniques permettant de déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Son principe repose sur la mise en contact in vitro de la bactérie à tester avec l'antibiotique et sur l'observation des conséquences sur la croissance et la survie bactérienne **[53].**

b) Choix des antibiotiques

Le choix des antibiotiques utilisés dans cette étude a été fait selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie **[49].** La liste des antibiotiques choisis est présentée dans le **tableau 07**

Tableau 07 : Liste des antibiotiques testés sur les entérobactéries

Famille		Antibiotique	Sigle	Charge Du disque	Diamètres critiques	
					R (d)	I S (D)
β-Lactamines	Aminopénicillines	Amoxicilline	AMX	25 µg	**< 19**	**≥19**
	Carboxypénicillines	Ticarcilline	TC	75 µg	**<20**	**≥23**
	Uréidopénicillines	Pipéracilline	PRL	100 µg	**<17**	**≥20**
	Carbapénèmes	Imipénéme	IPM	10 µg	**<16**	**≥22**
	Clavams	Ticarcilline+Acideclavulanique	TTC	75-10 µg	**<20**	**≥23**
	Monobactames	Aztréonam	ATM	30 µg	**<21**	**≥26**
	C1G	Céfalexine	CL	30 µg	**<14≥14**	
	C2G	Céfoxitine	CX	30 µg	**<15**	**≥19**
	C3G	Céfotaxime	CTX	30 µg	**<17**	**≥20**
		Ceftazidime	CAZ	30 µg	**<19**	**≥22**
Aminoglycosides		Amikacine	AK	30 µg	**<13**	**≥16**
		Gentamicine	GEN	10 µg	**<14**	**≥17**
Fluoroquinolones		Ofloxacine	OF	5 µg	**<22**	**≥24**
		Ciprofloxacine	CIP	5 µg	**<24**	**≥26**
Triméthoprime-sulfamides		Co-Trimoxazole	COT	1,25-23,75 µg	**<11**	**≥14**

C1G : céphalosporines première génération, **C2G :** céphalosporines deuxième génération, **C3G** : céphalosporines troisième génération.

c) Technique

- **Préparation de la gélose :**

La gélose utilisée est la gélose Mueller-Hinton (MH). Son épaisseur doit être de 4 mm ± 0,5 mm (approximativement 25 ml pour une boîte de 90 mm de diamètre).

- **Préparation de l'inoculum**

- Préparer une suspension bactérienne (à partir d'une culture jeune de 18 heures), prélever au moins 03 colonies et émulsionner dans 05 ml d'eau physiologique stérile (L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min. qui suivent sa préparation).
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne. Son opacité doit être équivalente à une DO de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm soit 0,5 la valeur de Mac Farland. Cela correspond à une culture pure à peine confluente de 10^6 à 10^8UFC/ml.

➢ **Ensemencement de la gélose**

- Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.
- Écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions.
- Déposer les disques.

➢ **Dépôt des disques imprégnés d'antibiotiques**

Déposer les disques fermement, à l'aide d'une pince préalablement flambée, à la surface de la gélose inoculée et séchée. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boite, et chaque disque doit être éloigné au minimum de 30 mm des autres. Les disques d'antibiotiques sont répartis sur trois boites de Pétri selon la **figure 05.** Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.

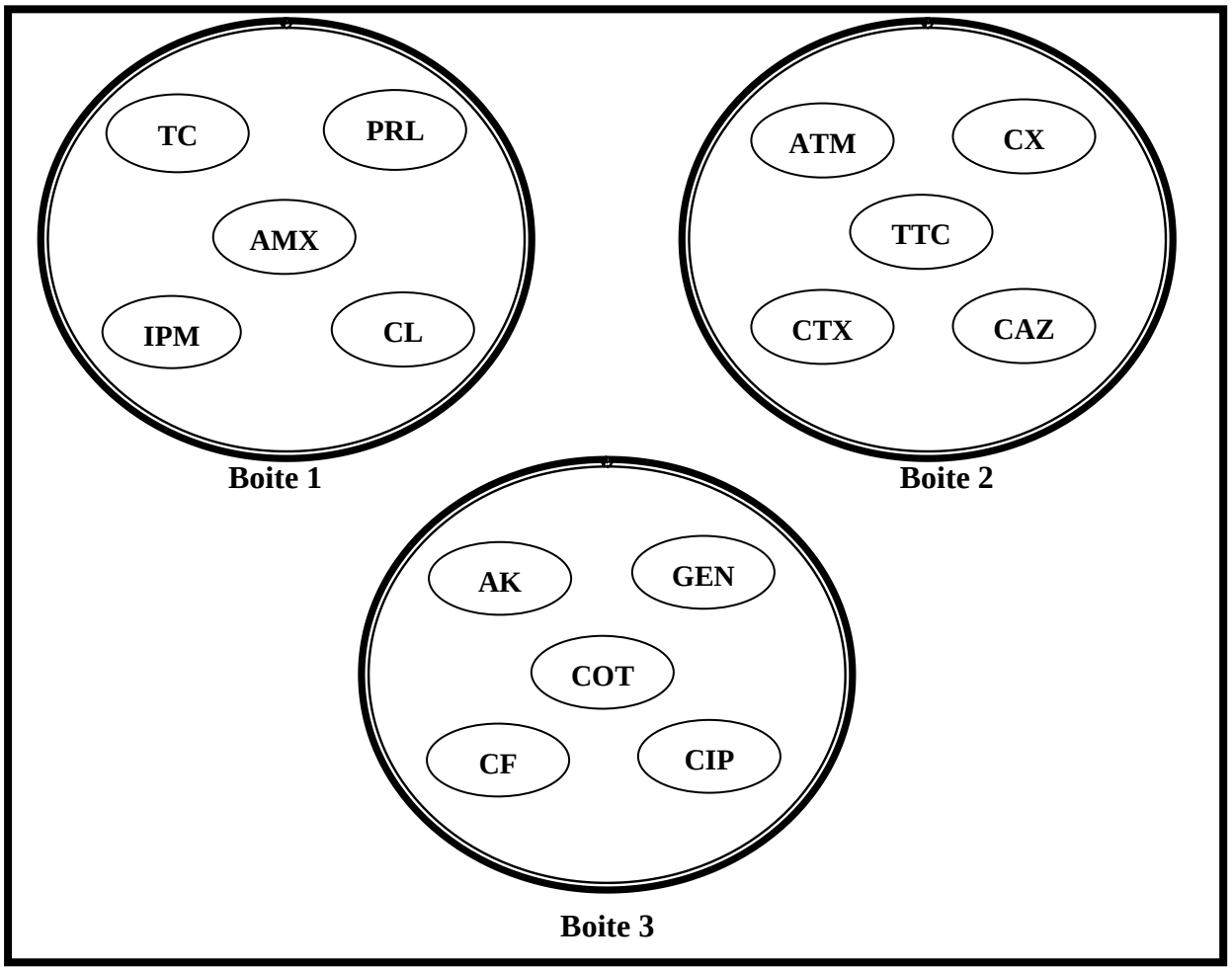


Figure 05 : Schéma explicatif de la disposition des disques d'antibiotiques.

- **Incubation des boîtes de Pétri**

Les incuber idéalement dans les 15 min. qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min. Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies. Incuber les boites à 37°C pendant 16 à 24 h (couvercle en haut).

- **Mesure des zones d'inhibition et catégorisation clinique**

La bordure de la zone d'inhibition doit être lue à l'œil nu et au niveau de la complète inhibition de la culture ; la boîte étant placée à 30 cm de l'œil.

Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle ou un pied à coulisse.

Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les diamètres critiques **(Tableau 07):** la comparaison des diamètres mesurés autour des disques déposés et ceux recommandés permettra de détecter le phénotype sensible, intermédiaire, et résistant :

- Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≥ D : la souche est dite sensible (S).
- Si le diamètre de la zone d'inhibition est < d : la souche est dite résistante (R).
- Si d ≤ diamètre de la zone d'inhibition < D : la souche est dite intermédiaire (I).



Chapitre II

Résultats et discussion

Au total, 50 isolats de BGN ont été obtenus après purification. Ces isolats ont montré différents aspects culturaux sur les milieux utilisés.

1. Examen macroscopique

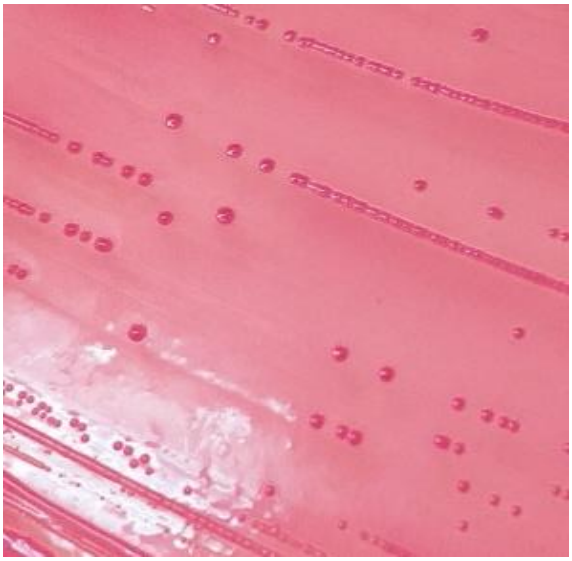
- Sur milieu Mac Conkey **(figure 06)**, les colonies observées sont transparentes (a) ou roses, parfois laiteuses (b), bombées(c) ou aplaties (d).



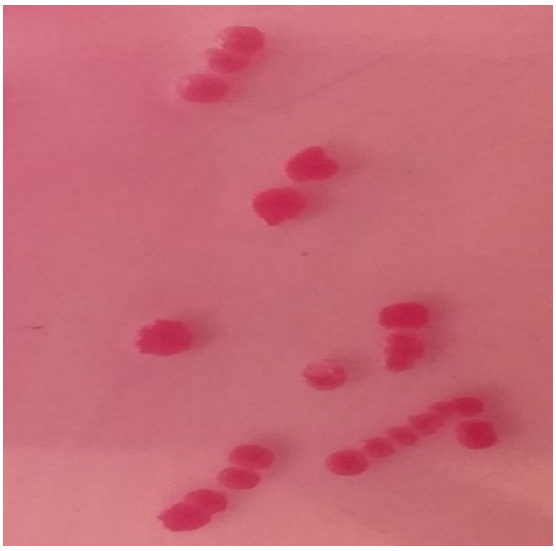
(a): Isolat 4 S6



(b): Isolat 9 S15



(c): Isolat 9 S16



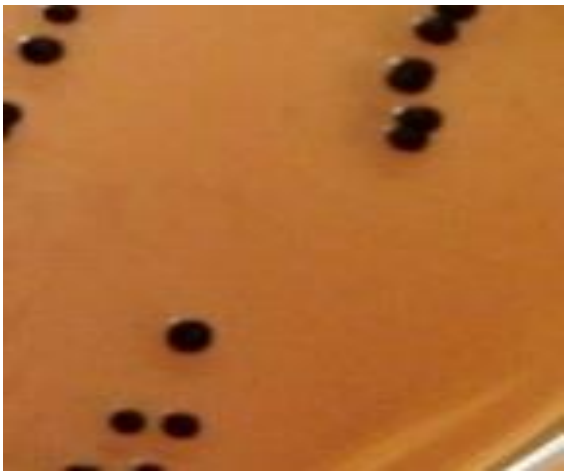
(d): Isolat 5 S9

Figure 06: Aspects culturaux de quelques isolats sur milieu Mac Conkey (Personnelles).

- Sur les milieux SS (a), DCLS (b) et Bismuth sulfite (c) utilisés pour isoler les salmonelles, on observe des colonies de tailles variables, transparentes avec ou sans centre noir. **(figures 07).**



(a) : Isolat sur SS



(b) :Isolat sur DCLS

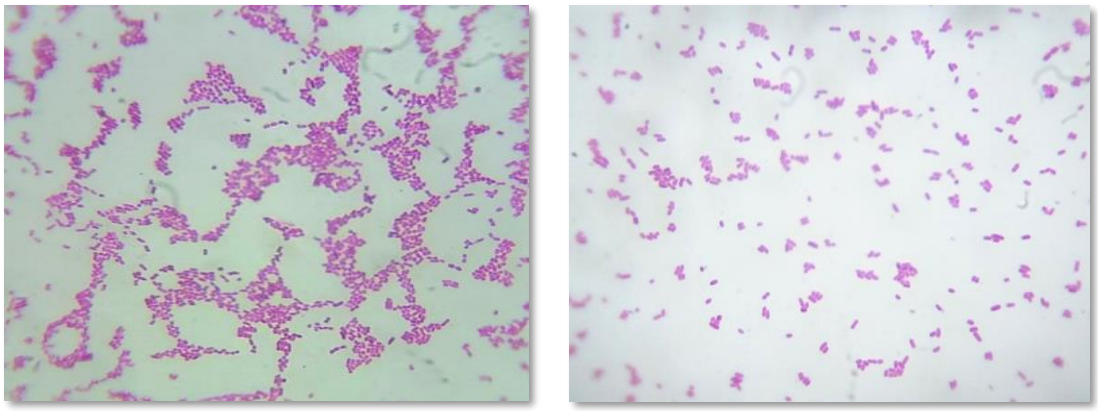


(c): Isolat sur bismuth sulfite.

Figure 07: Aspects macroscopiques de quelques isolats sur les milieux SS, DCLS et Bismuth sulfite (Personnelles).

2. Examen microscopique

Après coloration de Gram, l'observation microscopique des colonies repérées sur les différents milieux, a montré des BGN généralement sous forme de coccobacilles isolés ou regroupés en paires **(Figure 08)**, parfois des bacilles courts isolés ou regroupés en paires ou en chainettes.



(a) : Isolat 1 S4 **(b) : Isolat 9 S16**

Figure 08: Aspect microscopique de quelques isolats après coloration de Gram (Personnelles).

3. Identification biochimique

En raison de problèmes rencontrés au laboratoire, seulement 36 isolats, parmi 50 ont été soumis à l'identification. Les résultats des différents tests réalisés sur l'API 20E sont présentés dans le **tableau 08.**

Quelques exemples d'API 20E, correspondant aux différentes espèces, sont présentés dans les **figures 09.**

Tableau 08: Résultats des tests d'identification biochimique réalisée par l'API 20 E.

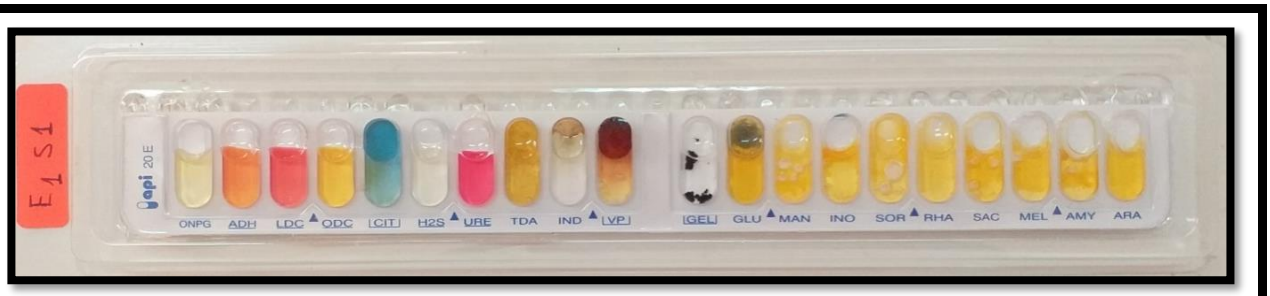
Test / Isolat	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO_2	N_2	Espèce
E1S1	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	*Klebsiella pneumoniae*
E1S2	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	*Klebsiella pneumoniae*
E1S3	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+		*Providencia alcalifaciens*
E1S4	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
E1SS1	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Serratia fonticola*
E2SS2	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+		*Citrobacter freundii*
E3S5	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		*Escherichia coli 1*
E3SS3	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
E4S6	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	*Pseudomonas luteola*
E4S7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	*Acinetobacter baumanii*
E4S8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	*Acinetobacter baumanii*

Tableau 08 (suite).

Test / Isolat	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO_2	N_2	Espèce
E4SS4	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	*Enterbacter sakazakii*
E5SS6	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	*Escherichia coli 1*
E6S10	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	*Pseudomonas luteola*
E6S11	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	*Acinetobacter baumanii*
E7S12	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	*Escherichia coli 1*
E7S13	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	*Kluyvera spp*
E7SS8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	*Serratiaodorifera 1*
E8S14	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	*Hafniaalvei 2*
E9S15	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	*Klebsiella oxytoca*
E9S16	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	*Klebsiella oxytoca*
E9SS10	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	*Salmonella spp*
E10S17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	*Acinetobacter baumanii*

Tableau 08 (Suite).

Test / Isolat	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO_2	N_2	Espèce
E11SS11	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	*Proteus mirabilis*
E11SS12	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	*Proteus vulgaris*
E12S22	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	*Escherichia coli 1*
E12SS14	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	*Salmonella pullorum*
E12SS15	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	*Salmonella spp*
E13S24	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	*Escherichia coli 1*
E13SS16	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	*Serratiamar cescens*
E13SS19	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	*Serratiamar cescens*
E14S25	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	*Escherichia coli 1*
E14SS20	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	*Salmonella spp*
E14SS22	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	*Salmonella spp*
E15S26	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	*Kluyvera spp*



La souche E1 S1 (*Klebsiella pneumoniae)*



La souche E1 S3 (*Providencia alcalifaciens)*



La souche E1 SS1 (*Serratia fonticola*)



La souche E2 SS2 *(Citrobacter freundii)*

Figure 09: Identification par l'API 20E des espèces d'entérobactéries isolées.



La souche E3 S5 (*Escherichia coli 1)*



La souche E4 SS4 (*Enterbacter sakazakii)*



La souche E7 S13 (*Kluyvera spp)*



La souche E7SS8 (*Serratia odorifera 1)*

Suite de la figure 09.



La souche E8 S14 (*Hafnia alvei 2)*



La souche E9 S15 (*Klebsiella oxytoca)*



La souche E9 SS10 *(Salmonella spp)*

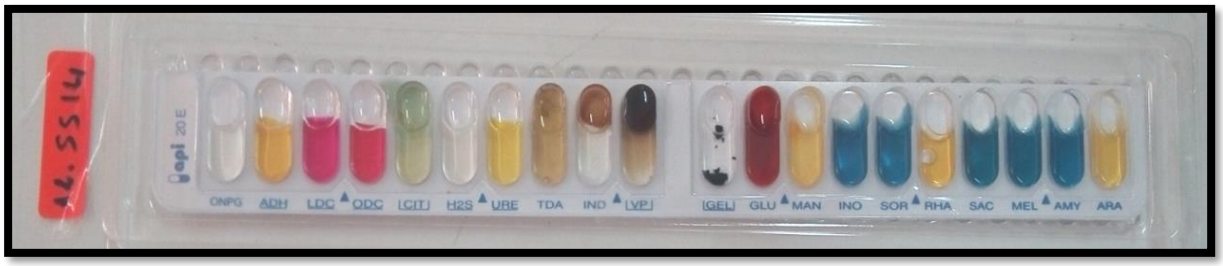


La souche E11 SS11 *(Proteus mirabilis)*.

Suite de la figure 09.



La souche E11 SS12 *(Proteus vulgaris).*



La souche E12 SS14 *(Salmonella pullorum).*



La soucheE13 SS16 (*Serratia marcescens).*

Suite de la figure 09.

4. Répartition des souches selon les espèces

Les résultats de l'identification biochimique ont permis de repartir les souches identifiées en fonction des espèces selon le **tableau 09.** L'illustration de cette répartition est présentée dans la **figure 10.**

Tableau 09: Effectif et pourcentage des souches selon les espèces.

Espèces	Effectif des souches	Pourcentage %
Escherichia coli 1	6	20,00
Klebsiella pneumoniae	4	13,33
Salmonella spp	4	13,33
Serratia marcescens	3	10,00
Klebsiella oxytoca	2	6,67
Kluyvera spp	2	6,67
Providencia alcalifaciens	1	3,33
Serratia fonticola	1	3,33
Serratia odorifera 1	1	3,33
Citrobacter freundii	1	3,33
Enterbacter sakazakii	1	3,33
Proteus vulgaris	1	3,33
Hafnia alvei 2	1	3,33
Proteus mirabilis	1	3,33
Salmonella pullorum	1	3,33
Total	30	100

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'entérobactéries isolées de viande hachée a montré une prédominance d'*E. coli* avec 20%, suivie de *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella spp* (13,33% pour chacune). *Serratia marcescens* occupe la troisième position avec une fréquence de 10 % suivie de *Kluyvera spp* et *Klebsiella oxytoca* avec des pourcentages égaux (6,67%), tandis que les autres espèces: *Hafnia alvei 2, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Citrobacter freundii, Serratia fonticola, Providencia alcalifaciens, Salmonella pullorum, Serratia odorifera1*et *Enterbacter sakazakii* ont présenté les pourcentages les plus faibles (3,33%).

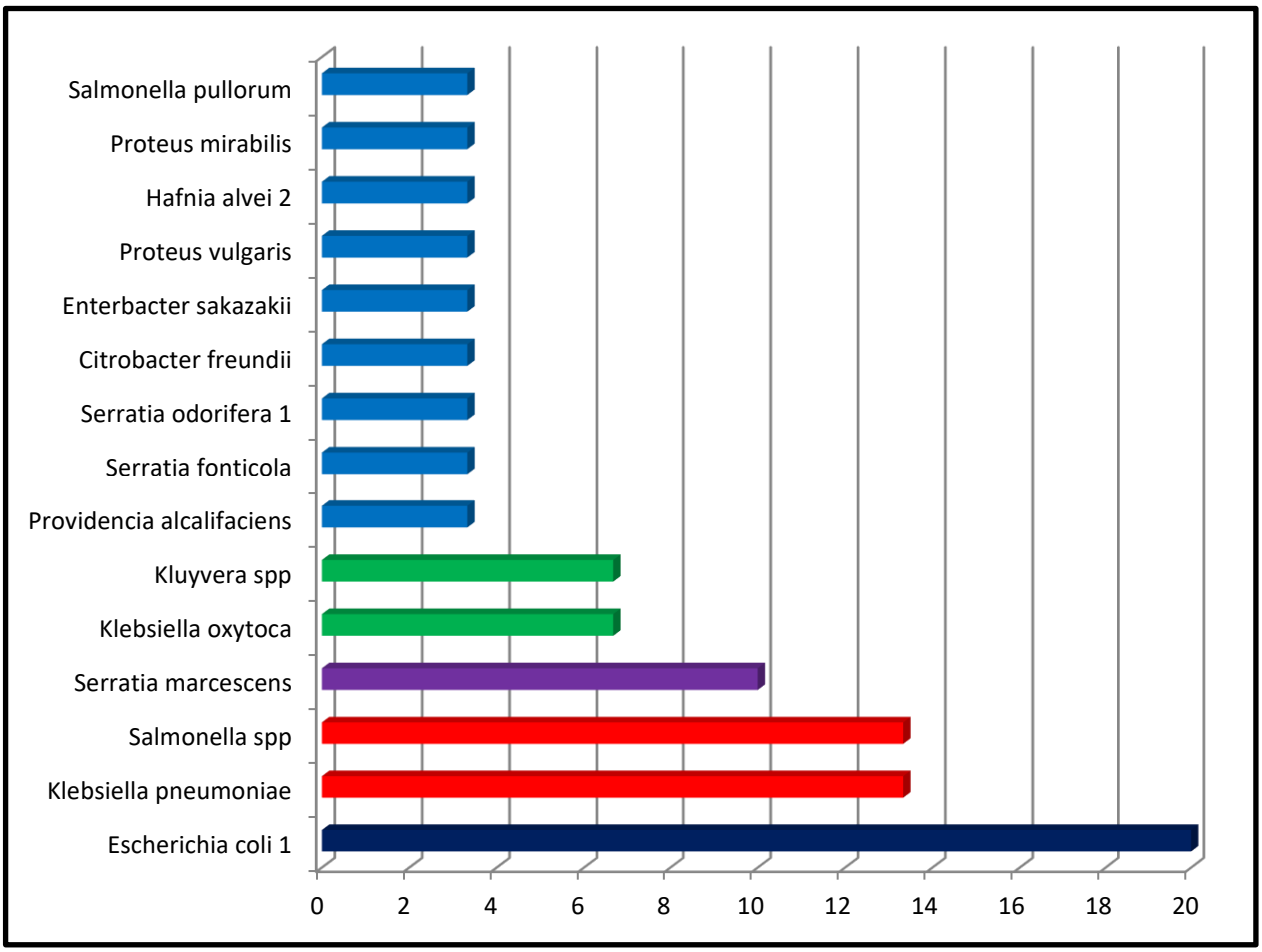


Figure 10: Répartition des souches en fonction des espèces.

Dans notre étude, le taux des *E.coli* a été de 20%. Il est inférieur à celui rapporté (54%) par **Banpawa [54],** dans une étude similaire à Dharan. *E. coli*a souvent été associée à des toxi-infections alimentaires allant de la simple gastroentérite jusqu'au syndrome hémolytique urémique. Elle fait partie des coliformes fécaux dont la présence dans la viande peut prendre origine dans les abattoirs. En effet, la contamination des carcasses semble inévitable lors des opérations d'abattage, notamment lors de l'éviscération, par les mains des ouvriers, le matériel et l'eau utilisée. Un manque de précaution à ce niveau entraine sans doute des contaminations directes ou croisées. Ainsi, la contamination peut avoir lieu dans les boucheries ou lors du transport des carcasses en particulier s'il y a une rupture de la chaine de froid **[55].**

En ce qui concerne *Salmonella spp*, le taux trouvé dans notre étude est de 13,33%, alors que le pourcentage rapporté dans la viande hachée bovine commercialisée à Dharan était de 34% **[54].**

La présence de *Salmonella* dans la viande hachée pourrait s'expliquer par la contamination de la viande à partir des viscères, de la peau et du cuir des animaux, par le matériel ou d'éventuels manipulateurs porteurs sains **[55].**

Par ailleurs, d'autres espèces : *Klebsiella oxytoca, Serratia odorifera* et *Proteus vulgaris* ont présentés dans le présent travail des taux supérieurs à ceux rapportés dans une étude similaire portant sur la viande rouge dans laquelle le taux est de 2,5% pour chacune des trois espèces **[56].**

D'après nos résultats, on remarque la présence de quelques entérobactéries pathogènes : *Salmonella* et *E. coli*. Ceci pourrait être explique par le manque de respect des règles d'hygiène.
La contamination de viande hachée par les espèces d'entérobactéries trouvées dans notre travail pourrait avoir diverses origines, aux trois stades critiques suivants :

- La contamination liée à l'animal vivant.
- La contamination au cours de l'abattage, notamment au stade de l'éviscération.
- Celle inhérente aux différentes étapes de transformation (découpe, hachage, etc.)

Pour ce dernier point, plusieurs source de contamination indirect peuvent être impliqués : les opérateurs (outils et mains), les équipements, et plus globalement l'environnement des abattoirs et ateliers de travail (surface, air, sol, eau, etc.) **[57].**

5. Résistance aux antibiotiques

5.1. Résultats de l'antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme des 30 souches d'entérobactéries sont présentés dans le **tableau 10.**

Tableau 10: Résultats du test de la sensibilité aux antibiotiques

Espèces	ATB / Code	AML	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
Klebsiellapneumoniae	E1S1	R	R	R	R	S	S	I	S	R	R	S	S	S	S	R
	E1S2	R	R	R	R	S	S	I	S	R	R	S	S	S	S	R
	E1S4	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R
	E3SS3	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R
Klebsiellaoxytoca	E9S15	R	R	R	R	S	S	I	S	R	R	S	S	R	R	R
	E9S16	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R
Escherichia coli 1	E3S5	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R
	E5SS6	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	R	R
	E7S12	R	R	R	R	S	I	I	S	R	R	S	S	R	R	S
	E12S22	R	R	R	R	S	I	R	I	R	R	S	S	R	R	R
	E13S24	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R
	E14S25	R	R	R	R	S	I	R	S	R	R	S	S	R	R	R
Salmonella spp	E9SS10	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
	E12SS15	R	S	S	R	S	S	R	I	R	I	S	S	I	R	R
	E14SS20	R	S	I	R	S	S	R	I	R	I	S	S	R	R	R
	E14SS22	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S

Tableau 10 (Suite).

Espèces	ATB / Code	AML	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
Salmonella pullorum	**E12SS14**	**R**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**R**
Serratiafonticola	**E1SS1**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**
Serratiaodorifera 1	**E7SS8**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**
Serratiamarcescens	**E13SS16**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**
	E13SS19	**R**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**
	E15SS23	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
Kluyveraspp	**E7S13**	**R**	**R**	**R**	**R**	**S**	**I**	**I**	**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**R**	**R**	**S**
	E15S26	**R**	**R**	**R**	**R**	**S**	**I**	**R**	**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**
Citrobacterfreundii	**E2SS2**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**
Hafniaalvei 2	**E8S14**	**R**	**I**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
Providenciaalcalifaciens	**E1S3**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**S**
Enterobactersakazakii	**E4SS4**	**R**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
Proteusvulgarivs	**E11SS12**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**R**
Proteus mirabilis	**E11SS11**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**

Les trois souches *Klebsiella pneumoniae* E1 S1, E1 S2 et E1 S4 isolées du même échantillon ont présenté un profil commun, sauf que la souche E1 S4 est en plus résistante aux antibiotiques: ATM et fluroquinolones (OF et CIP).

Les souches de *Klebsiella oxytoca* sont résistantes aux fluoroquinolones et ont présenté des profils très proches de ceux d*e K. pneumoniae.* La souche E9 S16 a montré un profil particulier, caractérisé par des résistances supplémentaires aux antibiotiques : ATM, CX et GEN.

Quant aux souches d*'Escherichia coli,* elles étaient toutes résistantes à cinq antibiotiques qui sont: AML, TC, PRL, CL et CAZ. Les souches E3 S5, E12 S22 et E14 S25 ont partagé le même profil de résistance, elles ont montré, en plus des résistances communes, une résistance aux antibiotiques suivants : ATM, C3G, fluoroquinolones et COT.

Concernant *Salmonella spp,* les souches E9 SS10 et E14 SS22 sont parmi les souches sensibles dans notre collection, elles étaient toutes deux résistantes à CAZ, néanmoins E14 SS22 a été en plus résistante à OF. Alors que les deux souches E12 SS15 et E14 SS20 ont exprimé une résistance aux antibiotiques : AML, CL, ATM, CAZ, OF, COT, la seule différence est que la souche E14 SS20 a en plus été résistante à CIP.

Parmi les ATB de la famille des β-lactamines, la souche unique de *Salmonella pullorum* a exprimé une résistance juste aux 3 ATB (AML, CL et CAZ). De plus, elle était résistante au COT et intermédiaire à OF.

La souche E1SS1 correspondant à l'espèce *Serratia fonticola* a montré une résistance à 7 ATB : CX, CAZ, CTX, AK, CIP, OF et COT. Tandis que celle correspondant à l'espèce *Serratia odorifera* a été sensible dans l'ensemble quoi qu'elle a montré une seule résistance au COT et un phénotype intermédiaire à CAZ. Le même profil a été noté pour la souche de *Proteus vulgaris*.

Les deux souches de *Serratia marcescens* E13 SS16 et E13 SS19 ont partagé la résistance aux ATB: AML, CAZ, CIP, OF et COT, mais la souche E13 SS19 a en plus exprimé, une résistance à CL et CX; tandis que la souche E15 SS23 a été sensible à tous les ATB testés sauf AML et CAZ.

Quant aux deux souches de *Kluyvera spp,* elles ont présenté des profils très proches, elles étaient résistantes aux ATB : AML, TC, PRL, CL, CAZ, CTX, CAZ, CIP et OF. En plus de ces résistances, la souche E15 S26 a exprimé une résistance à ATM et COT.

La seule souche de *Citrobacter freundii* a présenté une résistance à six ATB (CL, CX, CAZ, CIP, OF et COT) parmi 15 ATB testés.

L'espèce *Hafina alvei* est représentée dans notre travail par la souche E8 S14 qui a résisté à seulement cinq ATB appartenant à la famille des β-lactamines, il s'agit des ATB : AML, PRL, CL, CAZ et CTX.

De même, la souche E4 SS4 représentative de l'espèce *Enterbacter sakazakii*a été résistante à un nombre réduit des ATB (4 ATB : AML, TC, CIP et OF) appartenant aussi aux β-lactamines. D'une autre part, les souches correspondant aux espèces *Providencia alcalifaciens* et *Proteus mirabilis* ont également été résistantes à 4 ATB, mais appartenant à différentes familles d'ATB y compris les β-lactamines

5.2. Taux des souches résistantes, intermédiaires et sensibles

Les résultats de l'antibiogramme nous ont permis de déterminer les taux de résistance vis-à-vis des ATB testés **(Tableau 11 et figure 11).**

Tableau 11 : Effectifs des souches résistantes.

Antibiotique	Sigle	Nombre des souches (%)		
		Résistante (R)	Intermédiaire (I)	Sensible (S)
Amoxicilline	**AML**	23	0	7
Ticarcilline	**TC**	16	1	13
Pipéracilline	**PRL**	14	1	15
Céfalexine	**CL**	20	0	10
Imipénème	**IPM**	0	0	30
Ticarcilline+Acideclavulanique	**TTC**	2	6	22
Aztréonam	**ATM**	9	5	16
Céfoxitine	**CX**	6	4	20
Ceftazidime	**CAZ**	27	3	0
Céfotaxime	**CTX**	14	2	14
Amikacine	**AK**	1	0	29
Gentamicine	**GN**	2	0	28
Ciprofloxacine	**CIP**	16	1	13
Ofloxacine	**OF**	20	3	7
Co-Trimoxazole	**COT**	22	0	8

D'après le **tableau11**, on observe que la collection des souches a présenté des taux de résistance généralement importants, à la plupart des ATB testés. Les taux les plus élevés (plus de 50%) ont été marqués vis-à-vis des antibiotiques suivants : CAZ (90%), AML (76,67%), COT (73,33%), CL et OF (66,67%) et enfin CIP et TC (53 ,33%). Alors que les taux de résistance les plus faibles ont été notés à l'égard des ATB: TTC et GEN (6,67%) et AK (3,33%). De point de vue

efficacité, l'imipénème a été l'antibiotique ayant montré une efficacité à 100% sur les souches isolées dans notre étude.

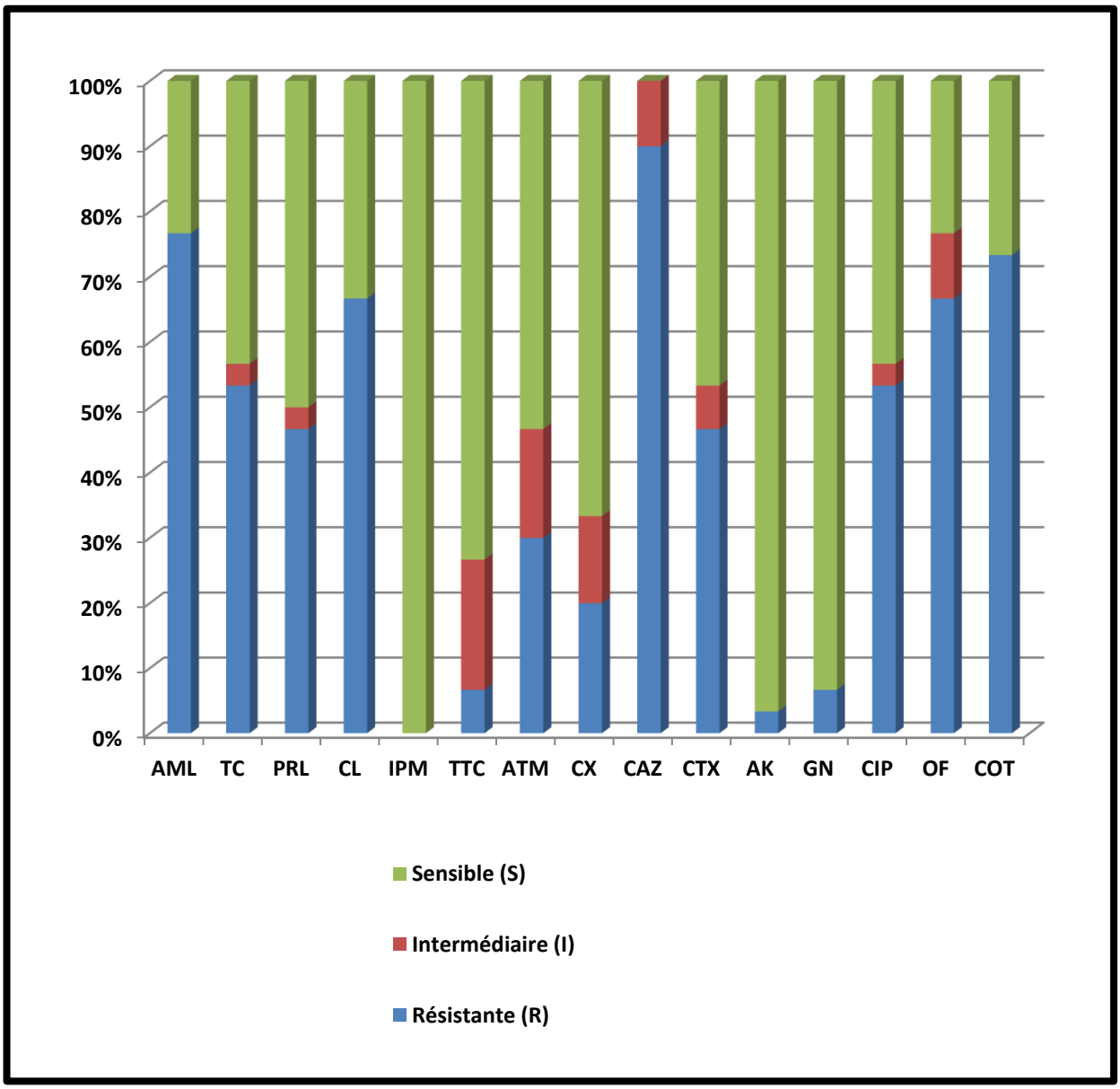


Figure 11 : Histogramme représentatif de la résistance aux antibiotiques des souches isolées.

La figure ci-dessus montre clairement qu'il y a des taux élevés de résistance à l'égard de certains antibiotiques: AML, CL, CAZ et COT et les fluoroquinolones. Ceci pourrait être dû à l'utilisation abusive et non contrôlée de ces antibiotiques en filière bovine. À titre indicatif, la liste des ATB pouvant être utilisés comme médicaments vétérinaires est donnée dans **l'annexe E.**

Cette utilisation abusive et anarchique des ATB pourrait être justifiée par les multiples objectifs d'usage. Dans ce contexte, les antibiotiques destinés aux animaux producteurs des denrées

alimentaires (bovins, ovine, porcins et volailles) et les animaux de compagnie, peuvent être utilisés de quatre façons différentes, avec des objectifs variables :

- Les antibiotiques sont tout d'abord utilisés à **titre thérapeutique curatif dont** l'objectif majeur est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. Le traitement a aussi pour effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (lait, viande).
- Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une (des) bactérie (s), l'ensemble du groupe d'animaux est traité. Les sujets qui sont exposés mais ne présentent pas encore de signes cliniques (sains ou en incubation) font donc l'objet d'un traitement en même temps que ceux qui sont déjà malades. Cette pratique est qualifiée de **métaphylaxie.**
- Les antibiotiques peuvent, parfois, être administrés sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue. Dans ces conditions, on parle d'**antibioprévention.**
- L'usage des antibiotiques dans l'alimentation des animaux à titre d'additifs, en vue d'améliorer la croissance, en modifiant la composition de microbiote intestinale entrainant ainsi une meilleure assimilation des aliments par les animaux.**[58]**

5.3. Profils de résistance

À partir des résultats de l'antibiogramme précédemment présentés dans le **tableau 10,** on a établi les profils de résistance des différentes souches et on les a organisés selon le type et le nombre des ATB auxquels les résistances sont exprimées. Ainsi, on a compté 23 profils hétérogènes de résistance aux ATB, qui sont détaillés dans le **tableau 12.**

Tableau 12: Profils de résistance des souches isolées.

N° du profil	Souche	ATBs	Nbre ATB
01	E9S16	AML, TC, PRL, CL, ATM, CX, CAZ, CTX,GEN, CIP, OF,COT	12
02	E13S24	AML, TC, PRL, CL, TTC, ATM, CX, CAZ, CTX,GEN, COT	11
03	E1S4	AML, TC, PRL, CL, ATM, CAZ, CTX, CIP, OF, COT	10
	E3S5		
	E12S22		
	E14S25		
	E15S26		
04	E9S15	AML, TC, PRL, CL, CAZ, CTX, CIP, OF, COT	09
05	E5SS6	AML, TC, PRL, CL ,TTC ,CAZ ,OF ,COT	08
06	E7S12	AML, TC, PRL, CL, CAZ, CTX, CIP, OF	
	E7S13		
07	E1S1	AML, TC, PRL, CL, CAZ, CTX, COT	07
	E1S2		
08	E1SS1	CX, CAZ, CTX, AK, CIP, OF, COT	
09	E14 SS20	AML, CL, ATM, CAZ, CIP, OF, COT	
10	E13SS19	AML, CL, CX, CAZ, CIP, OF, COT	
11	E2SS2	CL, CX, CAZ,CIP, OF, COT	06
12	E12SS15	AML, CL, ATM, CAZ, OF, COT	
13	E13SS16	AML, TC, CAZ, CIP, OF, COT	
14	E 3 SS3	AML, TC, CAZ, OF, COT	05
15	E8S14	AML, PRL, CL, CAZ, CTX,	
16	E1S3	AML, TC, CIP, OF	04
17	E4SS4	AML, CL, CX, CAZ	
18	E11SS11	CAZ,CIP, OF, COT	
19	E12SS14	AML, CL, CAZ, COT	
20	E14SS22	CAZ, OF	02
21	E15SS23	AML, CAZ,	
22	E7SS8	COT	01
	E11SS12		
23	E9SS10	CAZ	

NbreATB : nombre des antibiotiques

Famille des β-lactamines, Famille des Fluoroquinolones, Famille des Aminoglycosides, Famille des Triméthoprime-sulfamides.

L'analyse des différents profils nous a permis de faire les constatations suivantes:

- ✓ Une résistance aux β-lactamines a été observée dans tous les profils à l'exception d'un seul profil correspondant à une résistance au Co-Trimoxazole seulement (profil 22).

- ✓ Les deux profils 1 et 8 sont lesseuls qui ont exprimé une résistance à toutes les 4 familles d'ATB testées (β-Lactamines, Aminoglycosides, Fluoroquinolones, Triméthoprime-sulfamides).
- ✓ La plupart des profils (12 parmi 23 profils) a montré une résistance à trois familles qui sont généralement les β-lactamines, les fluoroquinolones et les Triméthoprime-sulfamides, sauf le profil 2 qui a montré une association différente (β-lactamines, Aminoglycosides et Triméthoprime-sulfamides).

5.4. Souches multirésistantes

Une bactérie multi-résistante (BMR) peut être définie comme toute bactérie non sensible à au moins un agent antimicrobien parmi au moins 3 catégories à tester pour le germe **[59].**

Au cours de notre étude, nous avons utilisé 4 familles d'antibiotiques, auxquelles, l'expression de résistance nous a permis de considérer 18 souches parmi 30 comme BMR, ce qui correspond à 60% des souches étudiées. Les pourcentages des souches BMR selon l'espèce sont donnés dans le **tableau 13.**

Tableau 13: Répartition des souches multirésistantes selon l'espèce.

Espèces	Nombre des souches	(%)
Escherichiacoli 1	6	33,33
Klebsiellapneumoniae	2	11,11
Klebsiellaoxytoca	2	11,11
Salmonella spp	2	11,11
Serratia marcescens	2	11,11
Serratia fonticola	1	5,55
Citrobacter freundii	1	5,55
Kluyvera spp	1	5,55
Proteus mirabilis	1	5,55

La **figure 12**, représente les photos de l'antibiogramme de la souche E13 SS19 multirésistante à 7 ATB.

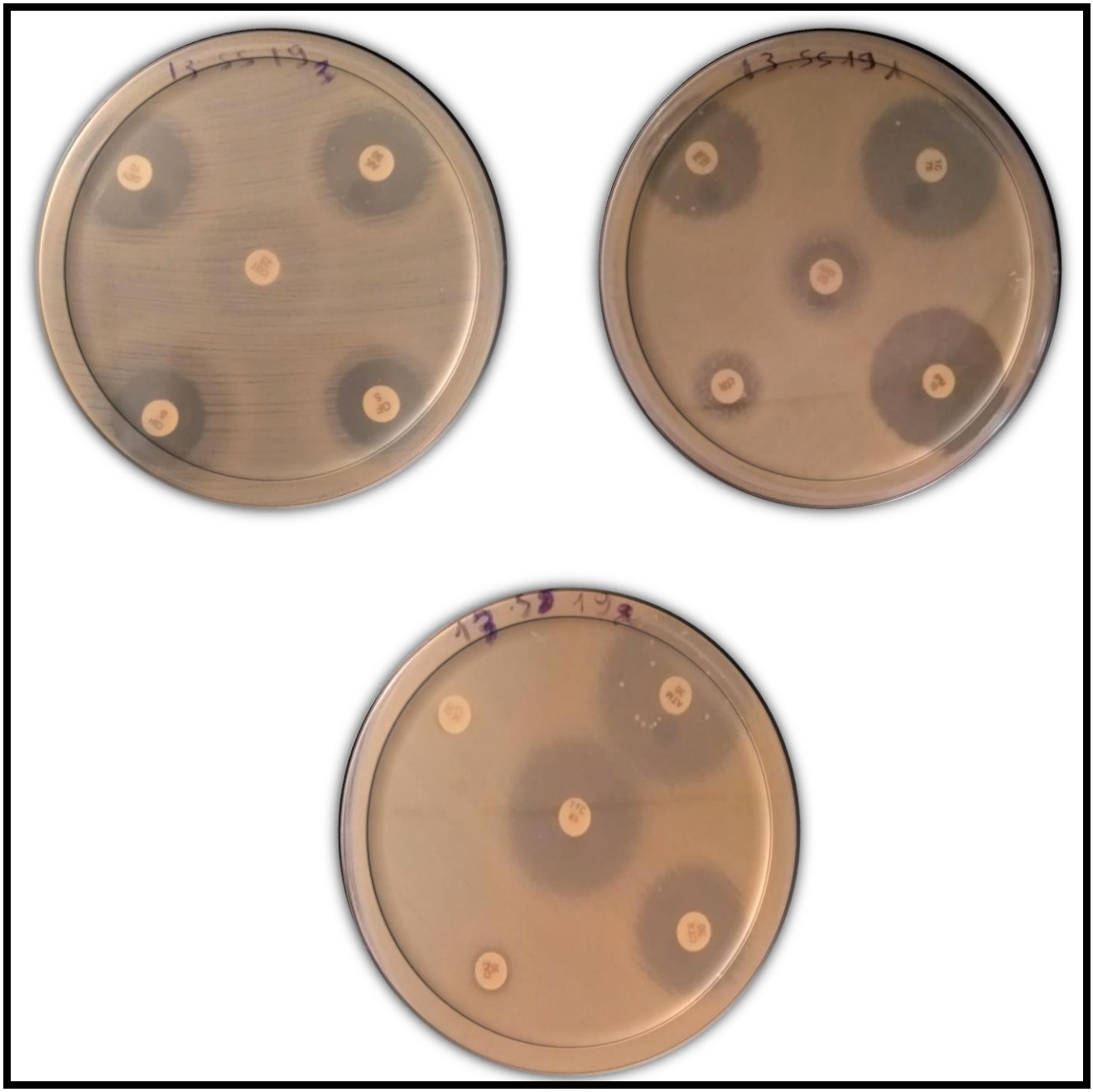


Figure 12: Antibiogramme de la souche E13 SS19

D'après le **tableau 13**, on remarque que l'espèce *E .coli* a occupé la première place avec un pourcentage de 33,33 % des souches multi résistantes. Par ailleurs, il faut signaler que toutes les souches d'*E.coli* dans notre étude ont été multirésistantes. Elles ont été isolées à partir de 6 sur 15 échantillons de viande hachée, soit 40%. Ce taux de contamination est supérieur à celui rapporté dans une étude **[60],** portant sur des entérobactéries multirésistantes, précisément, productrices des bêta-lactamases à spectre étendu, dont seulement 20% des échantillons ont donné des souches multirésistantes incluant seulement des *E.coli*.

Les résultats obtenus dans notre travail, montrent clairement que la viande hachée héberge des BMR à un taux relativement élevé. Ceci pourrait être dû, d'une part, à la capacité des entérobactéries à acquérir les résistances aux ATB. Cette acquisition peut être la conséquence d'un **transfert horizontal** des gènes de résistance aux antibiotiques généralement localisés sur le chromosome. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que plasmides, transposons, intégrons ou encore sur des phages. Les mécanismes de transfert correspondent à des mécanismes bien connus: transformation (à partir d'ADN nu), conjugaison (à partir de plasmides) ou transduction (à partir de phage).

D'une autre part, l'utilisation massive des ATB rend les bactéries résistantes ; ces dernières peuvent alors diffuser très rapidement dans une population **[58].**

Conclusion



Conclusion

L'utilisation des antibiotiques considérablement augmenté au cours des dernières années. Cette augmentation est associée à des taux de plus en plus élevé de résistance exprimée en particulier par les entérobactéries. La présente étude s'est intéressée à l'évaluation de la résistance aux d'antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées de viande hachée commercialisée à Tébessa, et à la détermination de leurs profils de résistance.

Durant la période d'étude on a pu isoler et identifier 30 souches d'entérobactéries à partir de 15 échantillons. Ces souches appartiennent à différentes espèces qui sont principalement : *E. coli* qui occupe la première place, suivie de *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella* puis *Serratia marcescens* dans la troisième place; les autres espèces ont présenté des pourcentages très faibles.

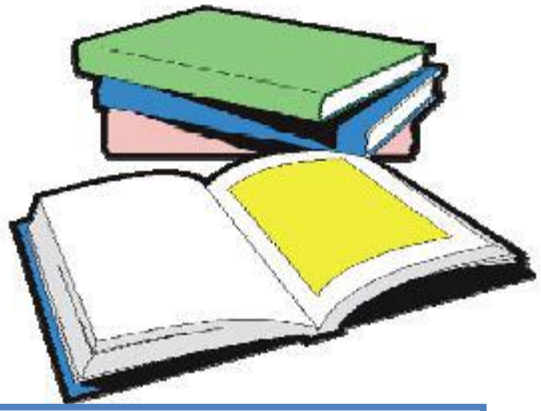
Les résultats du test de sensibilité aux antibiotiques ont montré des taux de résistance très élevés aux trois antibiotiques, ceftazidime, amoxicilline et co-Trimoxazole. Par contre, ils ont montré un taux moindre aux quatre autres antibiotiques, céfalexine, ofloxacine, ciprofloxacine et ticarcilline. Néanmoins, d'autres antibiotiques ont conservé leurs efficacités, il s'agit de l'imipénème dont toutes les souches ont été sensibles à cet antibiotique, de l'amikacine, la gentamicine et la ticarcilline + acide clavulanique.

D'après nos résultats plus de la moitié des souches ont été multirésistantes, dont les associations les plus marquées correspondent aux trois familles : β- lactamines, Fluoroquinolones et Triméthoprime-sulfamides. Ceci constitue véritable menace de la santé publique majeure.

Les taux élevés de résistance notés dans cette étude reflètent l'usage intensif des antibiotiques dans les élevages et dans la médecine humaine et vétérinaire.

Dans le cadre de mesures destinées à limiter l'émergence de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques, il convient alors de procéder à:

- un dépistage précoce des infections à ces germes; par la bonne pratique des conditions d'hygiène au niveau des élevages et des abattoirs;
- un bon usage des antibiotiques notamment ceux appartenant aux familles β- lactamines, Triméthoprime-sulfamides et Fluoroquinolones;
- une utilisation à courte durée et les associer avec d'autres familles d'antibiotiques pour diminuer le développement des mécanismes des résistances chez les bactéries.



Références Bibliographiques

1. Savadogo M et Boubkeir Y. (2016). Isolement et étude de quelques Entérobactéries pathogènes dans les eaux usées d'Oued Boumerzoug à Constantine [en ligne]. Mémoire de master. Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes: Université des Frères Mentouri, 51 P, Disponible sur : http://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2016/145 (consulté le 12/12/2018).
2. Daghor H. (2013/2014). Synthèse biobibliographique sur l'antribiresistance chez les *Enterobacteries* [en ligne]. Mémoire de licence : Microbiologie fondamentale et appliquée. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 50 P.
3. Khennouch N. (2016). Evaluation de l'antribiresistance du genre *Enterobacter* aux antibiotiques [en ligne]. Thèse de doctorat : microbiologie appliquée. Annaba, université Badj Mokhtar, p 115 .disponible sur : http://biblio.univ-annaba.dz. (Consulté le 1/12/2018)
4. Delarras C. (2010). Micro-organisme des eaux. In : Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux [en ligne]. 2ème édition. France : Lavoisier, P. 87-168. ISBN 978-2-7430-1211-3. Disponible sur https://books.google.dz- (Consulté le 20/11/2018).
5. Joly B et Reynaud A. (2007). *Enterobacteries :* Systématique et méthode de diagnostic. Edition technique et documentation. Parie. P 3.
6. Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition technique et documentation Lavoisier, Paris. P 128-129, 247.
7. Mamod A. (2016). Enterobacteries résistantes aux céphalosporines de 3^{émé} génération : Quelles alternatives aux carbapénèmes ? [en ligne]. thèse de doctorat : pharmacie à Poitiers: faculté de médecine et de pharmacie, 60 p. Disponible sur : http://nuxeo.univ-poitiers.fr (consulté le 05/01/2019).
8. EL Mahi F. (2013). profil épidémiologique des entérobactéries productions de carbapénémases diagnostiques au laboratoire de microbiologie du chu de rabat [en ligne]. Thèse de doctorat : Rabat : Université Mohammed V-Souissi, P 7. Disponible sur : http://ao.um5s.ac.ma/xmlui/handle/123456789/952 (consulté le 3/1/2019).
9. Entérobactéries. Disponible sur : http://anne.decoster.free.fr/ .(Consulté le 15 /11/2018).
10. Drame B. (2001). Microméthode d'identification et d'étude de sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Thèse de doctorat. pharmacie. Dakar. 86 P.
11. Le Minor L, Véron M. (1989). Bactériologie médicale. 2éme édition. Science Flammarion. 1107 P. ISBN : 2257124189, 9782257124180.
12. Khayar Y. (2011). Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline – acide clavulanique l'imipenème et l'ertapenème [en ligne]. Thèse de doctorat en pharmacie. Rabat : 80 P. disponible sur : http://ao.um5s.ac.ma011 (Consulté le 16/02/2019).

13. Cours de bactériologie médicale [en ligne]. Disponible sur : http://www.microbes-edu.org/etudiant/etudiants.html (Consulté le 26/12/2018).

14. Terkja N. (2013). étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen [en ligne]. Mémoire de master. microbiologie. aboubekr belkaid, 54 P. disponible sur : http://dspace.univ-tlemcen.dz/112/7255 (consulté le 29/11/2018).

15. Mendaci A, Mihoubi S. (2015). profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes (*Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae*) [en ligne]. Mémoire de master. microbiologie générale et biologies moléculaire des microorganismes. Constantin : université des frères mentouri, 63 P. disponible sur : http://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2015/199-2015.pdf (consulté le 30/12/2018).

16. Mohamed C. (2017). étude epidemio-moleculaire des entérobactéries productrices de β-lactamases a spectre élargi au chu de Marrakech [en ligne]. Thèse de doctorat: biologie médicale. Rabat: université, 131p. Disponible sur http://ao.um5s.ac.ma/js+pui/handle/123456789/16278 (consulté le 05/02/2018).

17. Carbonnelle B, Denis F et *al*. Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Paris. 121-137p.

18. Denis F, Poly C, Martin C et *al.* (2007). Bactériologie médicale : Technique usuelles. 2ème édition. Elsevier Masson SAS. 640 p. Disponible sur : https://books.dz. (Consulté le 6 /12 /2018).

19. Lagha N (2015). Etude de la résistance aux ATB des entérobactéries productrices de ß-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de la Laghouat .Thèse de doctorat : université Abou Betr Belkaid Tlemcen ,80p.

20. Debabza M. (2005). Analyse microbiologique des eaux des plages de la ville d'Annaba [en ligne]. Mémoire de magister : microbiologie de l'environnement. Annaba, université Badji Mokhtar, 127p .disponible sur : http://biblio.univ-annaba.dz. (Consulté le 09/03/2019).

21. Jaureguy F. (2009). Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. Paris : 221-223 p.

22. Duca E, Duca M, Furtunescu G. microbiologie médicale, 2ème édition .Didactique et pédagogique, Bucarest, 1979, 436 p.

23. Euzéby J (2010). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature.Int.j.Syst.Bacteriol

24. F et Grinont P. (2002). *Enterobacter* In : Bergy's manual of systematic bacteriology , 2ème édition , vol 2 : the proteobacteria , partie B : the *gamma proteobacteria* USA, Springer, PP : 661-671. Disponible sur : https://books.google.dz (Consulté le 11/11/2018).

25. Delarras C. (2014). Entrobacteriaceae (entérobactéries).In : Pratique en microbiologie de laboratoire : Recherche de bactéries et de levures-moisissures [en ligne]. Paris. ISBN 978-2-7430-1565-7. Disponible sur : https://books.google.dz/books (consulté le : 12/02/2019).

26. Lehner A. (2004). Microbiological, epidemiological and food safety aspects of *Enterobacter sakazakii*. Journal of Food Protection, 67(2): 2850-2857 P.

27. Fraser S, Arnett M et Sinave C. (2010). *Enterobacter* Infections. Medicine specialties. infectious diseases. Bacterial infections. Contributor Information and Disclosures.

28. Boukoucha M. (2015). Caractérisation phénotypique et moléculaire des salmonelles isolées à partir des aliments et d'origine humaine responsable de gastro-entérites.
[en ligne]. Thèse de doctorat : Science alimentaires. Constantine, 165 P. Disponible sur : http://bu.umc.dz (consulté le 28/02/2019).

29. Korsak, N. Clinquart A et Daube G. (2004). *salmonella spp*. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique ? 148, 174-193 P. disponible sur : http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles (consulté le 16/12/2018).

30. Cristian C. (2008). Microbiologie hygiène base microbiologiques de la diététique. TEC & DOC Lavoisier, Paris.76 -86, 257 P. ISBN : 978-2-7430-1010-2.

31. Bounitait L, Calle F, Quéguiner M et *al.* (2017). Enquête récentes sur la contamination par Salmonella *enteridis* dans la filière volaille. Anses. France [en ligne]. 19 P. Disponible sur : https://www.anses.fr (consulté le 03/03/2019)

32. Dufour P. (2005). Les diarrhées du macaque cynomolgus (Macaca fasciculaires) : essai de prophylaxies dans un élevage de l'ile Maurice de Toulouse .Thèse de doctorat : Vétérinaire. Toulouse : Université Paul-Sabatier. p 146- 155.

33. Flandrois J. (1997). Bactériologie médicale [en ligne]. France : Presses Universitaires Lyon, 309 P. ISBN 2-7297-0567-8. Disponible sur : https://books.google.dz/booksh/
(Consulté le 27/02/2019).

34. Thierry, P. Patrick, R. (2000). *Shigella*. In : Patrick, R. Colites infectieuses de l'adulte
[En ligne]. Paris: John libbey eurotext, P 103-112. ISBN 2742002855. Disponible sur : https://books.google.dz/books (consulté le 17/02/2019).

35. William D. (2016). *Shigella.* Caister academic press, 280 P. ISBN: 1910100209

36. Fauchere J. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses. Paris. p.365.

37. Branger C, Torres-Escobar A, Sun W et *al* (2009). Oral vaccination with LcrV from *Yersinia* pestis KIM delivered by live attenuated *Salmonella enteric* serovar Typh imuriumelicitsa protective immune responseagainst challenge with *Yersinia* pseudotuberculosis and *Yersinia enterocolitica*. Vaccine; 27(39): 5363-5370.

38. Djahida S (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes [en ligne]. Mémoire de magister en biologie : Biochimie appliquée. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid, 105 p. Disponible sur : http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/4749/1/SOUNA-Djahida . (Consulter le: 24/02/2019).

39. Vaaje-Kolstad G et *al*. (2010). An oxidative enzyme boosting the enzymatic conversion of recalcitrant poly saccharides. Vol 330. P 219-222.

40. Van R, Givskov M et *al* .Quorum sensing in *Serratia* FEMSS Microbiology Reviews. P407-442.

41. Belouni R, Benslimani A, Ramdani N et *al*. (2009). Manuel de microbiologie. 2ème édition .91 P.

42. Mounkoro P, Diakité A. (2015). Recherche et étude de *vibrio* cholerae dans les eaux usées d'Oued Boumarzoug. Mémoire de master. Université Fréres Mentouri Constantine.

43. Benabdallah K et Hamlaoui Y. (2016). Etude phénotypique de quelques souches d'*Echerchia coli*. Productrices des carbapénémases [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : université des frères mentouri. 36 P. Disponible sur : http://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2016/145 (consulté le 02/03/2019).

44. Shacoori T. (2011). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Université de Renne, France.

45. Meftah B, Souni S (2017). Étude comparative de la qualité microbiologique des viandes de Bœuf hachée : (viande hachée fraiche/viande hachée congelée) [en ligne]. Mémoire de Master : Industries agroalimentaires et contrôle de la qualité. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid, 35 P. Disponible sur : http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_ (Consulté le 20/03/2019).

46. Mariam K. (2006). Evolution de la flore bactérienne des viandes de bœuf hachées au cours d'un stockage réfrigéré [en ligne].Université Cheikh Anta Diop De Dakar, 30 p .Disponible sur : http://www.beep.ird.FR (consulté le 05 /01/2019).

47. Oualid A, (1991). conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande. P196-197.

48. Bourgeois C, Mescle J, Zucca J, (1996). microbiologie alimentaire. 2ème édition. 336 p. ISBN 2-7430-00376.

49. Hajer K, Mohamed S, Sana F. (2015). Occurrence of blaCTX-M-1, qnrB1 and virulence genes in avian ESBL producing Escherichia coli isolates from Tunisia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*.May Volume 5. pp: 1-8. DOI: 10.3389/fcimb.

50. Joffin N, Leyral G. (1996). Microbiologie technique. Tome 01 : Dictionnaire des techniques. Bordeaux: Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. Collection Biologie technique, 248 P.

51. Guiraud JP. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris, 652 p.

52. Bio Mérieux. France.

53. Jason, T. (2017). Apport l'antibiogramme et de la mesure de la capacité de formation du bio film dans la prise en charge des infections osteo-articulaires a staphylocoques [en ligne]. Thèse de doctorat: Microbiologie. Lyon : université Claude Bernard L, 243 P. Disponible sur : **http://www.crioac-lyon.fr/Documents/Theses/Tasse_these.**
(Consulté le 01/05/2019).

54. Banpawa K. (2018). Food-borne bacterial pathogens in marketed raw meat of Dhahran, eastern Nepal. BMC Research Notes [en ligne], 11(1), page 3. Disponible sur : www.researchgate.net. (Consulté le 17/05/2019).

55. Omokhtar B. (2008). Analyse microbiologique de la viande hachée bovine commercialisée à Fès, Maroc. Les technologies de laboratoire [en ligne], 3 (12). Disponible sur : http://revues.imist.marevues.imist.ma. (consulté le 02/05/2019).

56. Bouazza S, Bouakka N. (2016). Recherche des entérobactéries productrices de ß-lactamases à spectre élargie dans la viande rouge. Mémoire de master. Microbiologie appliqué à la santé et à l'environnement. Université de Tébessa. 57 P.

57. Feurer C. (2013). Application dans la filière des produits carnés. In : M. Zagore, S. Christieans, coord. Flores protectrices pour la conservation des aliments [en ligne]. 6ème édition. Paris : P. 69-89. ISBN 2759219208, 9782759219209. Disponible sur : https://books.google.dz/books. (consulté le 17/05/2019).

58. Chauvin C, Colin P, Guilot A et *al*. (2006). Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquence pour la santé humaine. [en ligne]. France. Afssa. Disponible sur : https://www.anses.fr . (consulté le 01/06/2019).

59. Boutoille D. (2012). Thérapeutique des infections à bactéries multirésistantes : le point sur la recherche clinique. Maladies Infectieuses et Tropicales CHU de Nantes. DESC maladies infectieuses, 80 P.

60. Christian P, Herbert G, Germot Z et *al*. (2014). Isolement and characterization of multidrug-resistant bacteria from minced meat in Austria. [en ligne]. Disponible sur:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov . (Consulté le 02/06/2019).

Annexes



ANNEXE A : Composition des milieux de culture utilisés

- **Gélose nutritive**

Peptone pepsique de viande.....**5g**

Extrait de viande.....**1g**

Extrait de levure **2g**

Chlorure de sodium **5g**

Agar **15g**

Eau distillée.....**1000ml**

- **Gélose Mac Conkey**

Peptone de caséine **17g**

Peptone de viande **3g**

Selsbiliares **1,5g**

Cristal violet **0, 0075**

Lactose **10g**

Rouge neutre **0,03g**

NaCl **5g**

Agar **12g**

Eau distillée.....**1000ml**

- **Gélose Mueller-Hinton**

Viande de bœuf **300.0g/l**

Hydrolysat de caséines.....**17,5g/l**

Amidon **1,5g/l**

Gélose.....**17.0g /l**

Eau distillée **1000ml**

- **Gélose *Salmonella-Shigella* (SS)**

Peptone ……...…….**5,0 g**

Extrait de viande…….....…….**5,0 g**

Lactose…….....**10,0 g**

Citrate de sodium…….....……..**10,0 g**

Citrate de fer III…….....……..**1,0 g**

Sels biliaires….....**8,5 g**

Rouge neutre……..…….…..….**25mg**

Thiosulfate de sodium…….…..…….**8,5 g**

Vert brillant…….....…….**3,3mg**

Agar-agar…….....…..….**12,0 g**

Eau distillée **1000ml**

- **Gélose Désoxycholate Citrate Lactose Sucrose (DCLS)**

Peptone …….....…… **7,0 g**

Extrait de viande.....**3,0 g**

Lactose .....**5,0 g**

Citrate de sodium .....**10,5 g**

Désoxycholate de sodium .....**2,5 g**

Rouge neuter.....**0, 03 g**

Thiosulfate de sodium.....**5,0 g**

Agar-agar.....**12, 0 g**

Eau distillée..... **1000ml**

- **Bouillon SFB**

Enzymatic Digestif of Casein ……**2.5g**

EnzymaticDigestif of Animale Tissue……..…**2.5g**

Lactose ……**4g**

Soduim Phosphate ……..**10g**

Soduim Selenite ……..….**4g**

Eau distillée…….……...**1000ml**

- **Tryptone- sel**

Tryptone (peptone de caséine)……..**1,0g**

Chlorure de sodium ……**8,5g**

Eau distillée…….…... **1000ml**

ANNEXE B : Coloration de Gram

Principe : La coloration permet de distinguer les bactéries GRAM+ des GRAM- grâce à leurs différences de nature de paroi

ETAPES	MODE OPERATOIRE	TEMPS	PRINCIPE
COLORATION PRIMAIRE	Recouvrir la lame de **violet de gentiane** - Rincer à l'eau distillée	1 minute	Le colorant violet pénètre dans les cellules bactériennes
MORDANÇAGE	- Recouvrir de **Lugol** - Rincer à l'eau distillée et l'égoutter	1 minute	Il se forme un complexe chimique entre le violet et le Lugol qui fixe le violet et colore le cytoplasme de toutes les bactéries en violet
DECOLORATION	-Tenir la lame inclinée et faire couler pendant **quelques secondes** de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore. - Rincer immédiatement à l'eau distillée et égoutter	1 minute	L'alcool dissout le violet de gentiane, si la paroi bactérienne est perméable à l'alcool (les lipides sont dissous par l'alcool), celui-ci pénètre dans les bactéries et décolore leur cytoplasme : les bactéries deviennent incolores. Si les bactéries ont une paroi imperméable à l'alcool (épaisse et sans lipides), elles restent colorées en violet et elles sont dites GRAM + ou positif
COLORATION SECONDAIRE	- Recouvrir la lame de **fuschine** - Rincer à l'eau distillée	1 minute	La fuschine recolore en rose les bactéries précédemment décolorées : les bactéries Gram à négatif.
SECHAGE	- Egoutter entre 2 morceaux de papier-filtre et laisser sécher		

ANNEXE C : Réactifs utilisés

Réactif de Kovacs :

- P-diméthylaminobenzaidéhyde**7 g**
- Alcool amylique **75 ml**
- Acide chlorhydrique concentré**20 ml**

Réactifs de Voges-Proskauer (VP) :

VP I :

- Hydroxyde de potassium**40 g**
- Eau **100 ml**

VP II :

- α naphtol**6 g**
- Ethanol **100 ml**

Réactif de la recherche du tryptophane désaminase (TDA) :

- Perchlorure de fer **3,4 g**
- Eau distillée stérile**100 ml**

Réactifs pour la recherche du nitrate réductase (NR) :

Réactif 01 :

- Acide sulfamilique**0,8 g**
- Acide acétique 5N **100 ml**

Réactif 02 :

- Naphtylamine**0,5 g**
- Acide acétique 5N**100 m**

ANNEXE D: Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée API 20^E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-Galactosidase	Beta- galactosidase	Incolore	ONPG
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	ADH
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	LDC
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	ODC
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	CIT
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	H2S
URE	Urée	Uréase	Jaune	URE
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / immédiat	
			Jaune	
IND	L-tryptophane	Production d'indole	James/ immédiat	
			Incolore/ vert pâle-jaune	
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP 1 + VP 2/ 10mn	
			Incolore	
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	GEL
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	GLU
MAN	D-mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	MAN
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	INO
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	SOR
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	RHA
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	SAC
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	MEL
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	AMY
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	ARA
Nitrate réductase Tube GLU	Potassium nitrate	Production de NO_2	NIT1 + NIT2 / 2-3 mn	
			Jaune	
		Réduction au stade N_2	Zinc / 5mn	
			Rouge/orangé	

ANNEXE E : Classification des principaux antibiotiques à usage vétérinaire

Principales familles d'antibiotiques à usage vétérinaire	Sous-familles d'antibiotiques	Modes d'action	Exemples de principes actifs à usage vétérinaire
Bêta-lactamines	Pénicillines Céphalosporines	Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, en particulier de la synthèse du peptidoglycane, ce qui modifie la rigidité de la structure et la forme de la bactérie. L'enveloppe externe est alors fortement fragilisée. La bactérie devient très sensible aux stress extérieurs (pression osmotique, température, stress mécanique) provoquant la lyse cellulaire.	Pénicillines G, M et A Céphalosporines (1re, 2e, 3e, 4e générations*)
Polymyxines		Perturbation de la structure de la membrane plasmique, en s'insérant parmi les phospholipides externes, ce qui désorganise son intégrité. La perméabilité n'est alors plus assurée. Des métabolites et ions fuient en dehors de la cellule, provoquant la mort de la bactérie.	Colistine Polymyxine B
Aminosides		Inhibition de la synthèse protéique en agissant sur les ribosomes et donc en bloquant leur action de synthèse des protéines. Cela empêche la formation de nouvelles protéines, donc la multiplication des bactéries voire, pour les aminosides, engendre leur destruction en provoquant la synthèse de protéines aberrantes	Gentamicine Apramycine
Macrolides & apparentés	Macrolides LincosamidesPleuromutilines		Erythromycine Spiramycine Clindamycine Tiamuline
Cyclines			Chlortétracyclines Doxycycline
Phénicolés			FlorfénicolThiamphénicol
Quinolones	Quinolones Fluoroquinolones	Perturbation de la structure de l'ADN, en se fixant sur des enzymes majeures de régulation : la topoisomérase et l'ADN gyrase.	FuméquineEnrofloxacineMarbofloxacine
Sulfamides		Inhibition compétitive de la synthèse des bases de l'ADN. Les sulfamides sont des analogues structurels de l'acide folique, intermédiaire de leur synthèse. Ce blocage conduit à un arrêt de croissance bactérienne.	Sulfadiazine SulfadiméthoxineSulfaméthoxazole + Triméthoprime