



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BORDJ BOU ARRERIDJ

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

## Intitulé

**Prévalences des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de denrées alimentaires d'origine animales commercialisées dans la région de BBA**  
**“Prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* isolated from food of animal origin in BBA area”**

Présenté par :

**BABOUCHE Sarah & DIAF Asma**

Soutenu le: Septembre 2022;

Devant le jury :

<b>Président:</b>	M <sup>me</sup> . TAMINE Milouda	MCB	Université de B.B.A
<b>Encadrant:</b>	M <sup>me</sup> . CHENOUF Nadia Safia	MAA	Université de B.B.A
<b>Examineur:</b>	M <sup>r</sup> . SEDRATI Tahar	MCB	Université de B.B.A

Année universitaire : 2021/2022

# **Remerciements**

**En premier lieu, nous remercions le bon Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a adonné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.**

**J'exprime ma profonde gratitude à notre promotrice Mme. CHENOUF NADIA SAFIA., qui nous a fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail. Nous avons eu le privilège de bénéficier de son enseignement, de son savoir et de ses conseils pertinents.**

**Nous tenons aussi à remercier vivement Mme. TAMINE Milouda pour l'honneur qu'elle nous a faite en acceptant de présider ce jury de soutenance.**

**Nous remercions également Mr. SEDRATI Tahar pour avoir accepté d'examiner ce travail.**

**Un remerciement spécial s'adresse à Monsieur MESSAI Chafik Rédha, Maître de Conférences A à l'Université de BBA pour son aide précieuse et ses conseils avisés**

**Nous remercions également tous nos enseignants et les membres d'administration de notre département. Nous tenons aussi à remercier du fond du cœur les techniciennes du laboratoire de la faculté SNVST de l'université de Bordj Bou Arreridj pour leurs précieux conseils, explications pertinentes et leurs services.**

**Nos remerciements vont bien sûr à nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Enfin, Nous adressons nos plus sincères remerciements à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, Merci à toutes.**

## *Dédicace*

**Je dédie le fruit de ce travail à ceux qui m'ont donné la vie ;**

**à celle qui m'a donné la force, le courage et l'espoir, à qui je ne rendrai jamais assez,  
à celle qui m'a bénie par ces Prières, ma tendre mère MAARICHE AMEL.**

**Celui qui représente l'exemple du sacrifice, du dévouement et de l'honnêteté, qui a  
fait de moi ce que je suis aujourd'hui, qui ne m'a pas donné tout ce que je voulais mais  
qui m'a donné tout ce qu'il avait de plus cher, PAPA FAROUK.**

**A mes frères YACINE , ABD EL KHALEK et ma sœur IKHLAS, que ce travail  
soit pour vous un exemple à suivre et vous incite à mieux faire.**

**A mon Chère oncle NOURDINE MAARICHE et sa femme NOUARA, à ses filles  
NAHLA et BASSMALA. Merci de m'avoir soutenue, de m'avoir encouragée et de  
m'avoir accueillie**

**A ma Chère tendre tante SALIHA MAARICHE.**

**A mes meilleures amies KENZA ALLOUCHE, AMINA et ASMA BENABDESLAM,  
SARAHREBOULI, MAYA KRAGHEL, IKRAM TOUHAMI et ZINEB TABBI merci  
d'être toujours là pour moi.**

**A mon binôme SARAH, avec qui j'ai partagé le bon et le mauvais pour réaliser ce  
modeste travail, merci pour tes efforts, ta compréhension. Je te souhaite une vie pleine  
de bonheur et de réussite.**

*Asma.*

## *Dédicace*

*Tout d'abord, je remercie Dieu le tout-puissant de m'avoir accordé la grâce d'achever ce travail ainsi qu'à ceux qui sont les plus chers et les plus proches de mon cœur.*

### *Ma chère mère*

*Tous les remerciements et appréciations n'exprimeront pas à quel point je suis reconnaissante pour votre travail acharné et pour m'avoir gardée à l'aise et pour mon succès depuis l'enfance. Je vous souhaite une santé, un bien-être et une longue vie.*

### *Mon cher père*

*Achèvement de ce travail, dont mon père a toujours eu un rôle en me motivant financièrement et moralement et en m'encourageant à terminer le chemin vers le succès et à récolter les fruits de ce travail. Je vous souhaite une santé, un bien-être et une longue vie.*

*Et à mon binôme, Asma, qui a participé avec moi dans la réalisation de ce travail, je te souhaite plus d'éclat dans ta vie future.*

**SARAH.**

## ملخص

تم عزل 61 سلالة من البكتيريا المعوية المنتجة لإنزيمات البيتاكتاماز واسعة الطيف من 93 عينة من كبد الدجاج بمدينة برج بوعريريج. في المختبر، تم الكشف عن مدى حساسية هذه البكتيريا ضد المضادات الحيوية عن طريق اختبار نشر قرص المضاد الحيوي على الأجار. أظهرت النتائج أن بكتيريا الإيشيريشيا كولي كانت الأكثر عزلا بمعدل 57 %، و لوحظ أعلى معدل مقاومة ضد السيفوتاكسيم 100 %، الكاناميسين 39 %، الستربتوميسين 88 % ، السيبروفلوكساسين 86% و الكلوروفينوكول بنسبة 57 %، كما أنه تم الكشف عن سبع سلالات متعددة المقاومة .

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المعوية، إنزيمات البيتاكتاماز واسعة الطيف، المقاومة ضد المضادات الحيوية ، الدجاج، برج بوعريريج.

**Abstract:**

16 ESBL- producing *Enterobacteriaceae* isolates were recovered from 39 samples of chicken liver in Bordj Bou Arréridj city. In vitro, antibiotic susceptibility was determined using disc diffusion method. *E. coli* was the most isolated with 75%. The highest rate of resistance was observed against Cefotaxime (100%), Kanamycin (94%), Streptomycin (88%), Ciprofloxacin (81%) and Chloramphenicol (75%). Moreover, 7 ESBL-producing isolates were multidrug resistant.

**Key words:** *Enterobacteriaceae*, ESBL, antibiotic-resistance, poultry, Bordj Bou Arréridj.

**Résumé :**

Un total de 16 souches d'entérobactéries productrices de BLSE ont été isolées de 39 prélèvements de foie de poulet de chair collectées à Bordj Bou Arreridj. In vitro, l'activité des molécules d'antibiotiques contre les isolats a été déterminée par le test de diffusion sur gélose. *E. coli* était le germe le plus isolé avec un taux de 75%. Les valeurs de résistance les plus élevées sont enregistrées vis-à-vis de la Céfotaxime (100%), la Kanamycine (94%), la Streptomycine (88%), la Ciprofloxacine (81%) et le Chloramphénicol (75%). De plus, sept souches se sont montrées multi-résistantes (43.75%).

**Mots-clés:** *Entérobactériaceae*, BLSE, antibio-résistance, poulet de chair, Bordj Bou Arreridj.

## Table des matières

Liste des abréviations

Liste des annexes

Liste des figures

Liste des tableaux

### Chapitre I : Synthèse bibliographique.

Introduction .....	1
I. Antibiotiques de la famille des $\beta$ -lactamines .....	3
I.1.Histoire .....	3
I.2.Structure chimique et classification.....	3
I.2.1.Pénames (Pénicillines).....	4
I.2.2.Chéphèmes (Céphalosporines) .....	4
I.2.3.Pénèmes. ....	5
I.2.4.Monobactames. ....	5
I.2.5.Inhibiteurs de $\beta$ -lactamases .....	5
I.3.Mode d'action.....	6
I.4.Résistance bactérienne aux antibiotiques .....	7
I.4.1.Résistance naturelle .....	8
I.4.2.Resistance acquise .....	8
I.4.2.1.Resistance chromosomique.....	8
I.4.2.2.Résistance extra chromosomique .....	8
I.4.2.2.1.Conjugaison .....	8
I.4.2.2.2.Transduction .....	8
I.4.2.2.3.Transformation .....	9

I.5.β-lactamases à spectre élargi (BLSE) .....	10
I.5.1.Classification des BLSE .....	10
I.5.2.Principaux types de BLSE.....	11
I.5.2.1.BLSE de type TEM .....	11
I.5.2.2.BLSE de type SHV .....	11
I.5.2.3.BLSE de type CTX-M.....	12

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

II.1.Objectif de l'étude.....	13
II.2.Lieu et période de l'étude.....	13
II.3.Echantillonnage.....	13
II.4.Matériel .....	14
II.5.Analyses bactériologiques .....	14
II.5.1.Enrichissement .....	14
II.5.2.Isolement.....	14
II.5.3.Purification.....	14
II.5.4.Identification des entérobactéries .....	15
II.5.4.1.Identification biochimique classique .....	15
II.5.4.1.1.Milieu TSI.....	15
II.5.4.1.2.Milieu Urée-Indole .....	16
II.5.4.2.Identification par galerie API20E.....	16
II.5.5.Antibiogramme.....	19
II.5.6.Test de synergie.....	23

## Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Prévalence des souches productrices de BLSE.....	24
III.2.Répartition des souches BLSE selon l'espèce.....	25
III.3.Résultats de l'antibiogramme.....	27
III.3.1.Fréquence de résistance par antibiotique.....	27
III.3.2.Fréquence de résistance par familles d'antibiotiques.....	29
III.3.2.1.Résistance aux $\beta$ - lactamines.....	29
III.3.2.2.Résistance aux aminosides.....	30
III.3.2.3.Résistance aux phénicolés.....	31
III.3.2.4.Résistance aux quinolones.....	32
III.4.Multi-résistances.....	33
<b>Conclusion</b> .....	34

### Références bibliographiques

### Annexes

## Liste des abréviations

- ❖ **ADH** : Arginine dihydrolase
- ❖ **AMC** : Amoxicilline/ Acide clavulanique.
- ❖ **APEC** : *E. coli* pathogènes aviaires.
- ❖ **API20E** : Analytical Profile Index (20 tests d'identification des entérobactéries)
- ❖ **BBA** : Bordj Bou Arreridj.
- ❖ **BHIB** : Bouillon de cœur – cervelle.
- ❖ **BMR** : Bactéries multi résistantes.
- ❖ **BLSE** :  $\beta$ -lactamases à spectre étendu.
- ❖ **CAZ** : Ceftazidime
- ❖ **CIT** : Utilisation du citrate
- ❖ **C1G** : Céphalosporines de première génération.
- ❖ **C2G** : Céphalosporines de deuxième génération.
- ❖ **C3G** : Céphalosporines de troisième génération.
- ❖ **C4G** : Céphalosporines de quatrième génération
- ❖ **CIP** : Ciprofloxacine
- ❖ **CLO** : Chloramphénicol
- ❖ **CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute.
- ❖ **CL** : Chloramphénicol
- ❖ **CTX** : Céfotaxime.
- ❖ **CTX-M** : Céfotaximase First isolated at Munich.
- ❖ **CTX<sup>R</sup>** : Souches résistantes à la Céfotaxime .
- ❖ **E. coli** : *Escherichia coli*.
- ❖ **GEL** : Gélatine
- ❖ **GN** : gélose nutritive.
- ❖ **IMP** : Imipenème.
- ❖ **IPA** : Institut Pasteur d'Algérie.
- ❖ **IND** : Indole.
- ❖ **KAN** : Kanamycine.
- ❖ **KP** : Carbapénèmases.
- ❖ **KPC** : *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase.
- ❖ **LDC** : Lysine décarboxylase.
- ❖ **MH** : Mueller Hinton..
- ❖ **TSI** : Triple sugar iron.
- ❖ **ND** : Non déterminé.
- ❖ **ODC** : Ornithine decarboxylase.

- ❖ **PG** : Peptidoglycane.
- ❖ **PLP** : Protéines liant les pénicillines .
- ❖ **SHV** : Sulfhydryl variable.
- ❖ **TDA** : Tryptophane Désaminase.
- ❖ **TEM** :Temoniera.
- ❖ **TOB** :Tobramycine.
- ❖ **VIM** : Verona integron-encoded métallo- $\beta$ -lactamase.
- ❖ **VP** : Production d'acétoïne.

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Structure de base des $\beta$ -lactamines .....	4
<b>Figure 2</b> : Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines .....	6
<b>Figure 3</b> : Pression de sélection des antibiotiques .....	7
<b>Figure 4</b> : Types de résistance bactérienne aux antibiotiques .....	7
<b>Figure 5</b> : Mécanismes génétiques de la résistance acquise .....	9
<b>Figure 6</b> : Classification d'Ambler des $\beta$ -lactamases chez les entérobactéries .....	11
<b>Figure 7</b> : Prélèvement des organes de foie .....	13
<b>Figure 8</b> : Enrichissement des organes dans le BHIB .....	14
<b>Figure 9</b> : Isolement sur deux milieux Hektoen et Mac Conkey .....	15
<b>Figure 10</b> : Identification sur milieu TSI .....	15
<b>Figure 11</b> : Test d'indole .....	16
<b>Figure 12</b> : Inoculation et lecture de la galerie API20E .....	18
<b>Figure 13</b> : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme .....	20
<b>Figure 14</b> : Préparation de l'inoculum .....	21
<b>Figure 15</b> : Ensemencement pour l'antibiogramme .....	21
<b>Figure 16</b> : Application des disques d'antibiotiques .....	22
<b>Figure 17</b> : Image de synergie chez une EBLSE .....	23
<b>Figure 18</b> : Fréquence d'isolement des souches BLSE .....	24
<b>Figure 19</b> : Image de synergie révélée chez une souche EBLSE .....	24
<b>Figure 20</b> : Identification de <i>K. pneumoniae</i> et d' <i>E. coli</i> par galerie API20 .....	25

<b>Figure 21</b> : Taux de résistance des souches EBLSE aux $\beta$ -lactamines .....	29
<b>Figure 22</b> : Taux de résistance des souches EBLSE aux aminosides.....	30
<b>Figure 23</b> : Taux de résistance des souches EBLSE aux phénicolés .....	31
<b>Figure 24</b> : Taux de résistance des souches EBLSE aux quinolones .....	32

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Antibiotiques testés pour l'antibiogramme.....	20
<b>Tableau 2.</b> Répartition des souches d'EBLSE isolées selon l'espèce .....	25
<b>Tableau 3.</b> Fréquences de résistance et de sensibilité des souches d'EBLSE isolées.....	27
<b>Tableau 4.</b> Fréquence d'antibiorésistance d'entérobactéries isolées du poulet en Algérie vis à vis de quelques antibiotiques.....	28

## Introduction

De tout temps, l'homme a dû faire face à des infections d'origine bactérienne car ces germes microbiens ont toujours été à l'origine de plusieurs pandémies au cours de l'histoire. Cependant, au début du XXe siècle, la découverte des antibiotiques par le scientifique écossais Alexander Fleming (1881-1955) a changé la donne. De nombreuses maladies d'origine infectieuse étaient presque battues grâce à ces molécules miracles (Bréchet, 2014).

Toutefois, l'utilisation abusive des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire ont engendré une augmentation constante de l'antibiorésistance chez les bactéries (Oppliger et Kramer, 2016). Parmi ces bactéries résistantes, on trouve les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (EBLSE), qui sont devenus aujourd'hui les bactéries multi-résistantes majoritaires et causent des échecs thérapeutiques énormes (Vodovar, 2016).

En 2016, des études ont estimé qu'au moins 700 000 de personnes meurent chaque année à cause de ces résistances aux antibiotiques. Ce chiffre pourrait passer à 10 millions de personnes en 2050 et pourrait s'élever si aucune action n'est mise en œuvre (De Kraker et *al.*, 2016).

En Algérie, le foie de poulet est largement consommé par la société et est très utilisé dans la préparation des sandwichs dans les fast-foods et les restaurants. Une fois insuffisamment cuit, ce foie peut être à l'origine de foyers d'intoxication alimentaire. La situation peut s'aggraver si cet aliment héberge des bactéries résistantes (Chenouf et *al.*, 2021).

Plusieurs études se sont intéressées à l'étude de l'émergence des EBLSE isolées de différents environnements notamment en milieu hospitalier et dans l'environnement animal (animaux de rente, animaux de compagnie et même les animaux sauvages) (Yousfi et *al.*, 2016 ; Sedrati et *al.*, 2021). A l'instar de ces travaux, notre étude se fixe pour objectif l'isolement et l'identification d'EBLSE à partir de prélèvements de foie de poulet collectés dans les marchés de la ville de Bordj Bou Arréridj (BBA) et l'étude de leur profil de résistance, et ceci, à fin d'estimer le risque éventuel en matière de santé publique.

Ce mémoire est divisé en deux parties :

En premier lieu, une synthèse bibliographique qui donne des généralités sur les antibiotiques notamment la famille des  $\beta$ -lactamines, tout en mettant le point sur les principaux mécanismes de résistance contre ces molécules ;

La seconde partie décrit la zone d'échantillonnage et résume les différents protocoles adaptés dans l'étude expérimentale (techniques d'enrichissement, d'isolement, de purification et l'antibiogramme). Les résultats sont finalement présentés et discutés.

## I- Antibiotiques de la famille des $\beta$ -lactamines

Le mot « antibiotique » a été proposé par Waksman en 1941. Il est d'origine grec « anti : contre » et « bios : la vie ». Ce sont des molécules ayant une activité antimicrobienne, qui sont soit d'origine microbienne ( $\beta$ -lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides), synthétiques (sulfamides, quinolones) ou semi-synthétiques. Ils peuvent avoir des effets bactéricides (destruction) ou bactériostatiques (inhibition) (Kresg et *al.*, 2004 ; Boulahbal, 2009 ; Chemelle, 2013 ; Woloch et Montang, 2018).

Les  $\beta$ -lactamines constituent la classe d'antibiotiques la plus variée et la plus utilisée pour le traitement et la prophylaxie des maladies infectieuses bactériennes (Cavallo et *al.*, 2004)

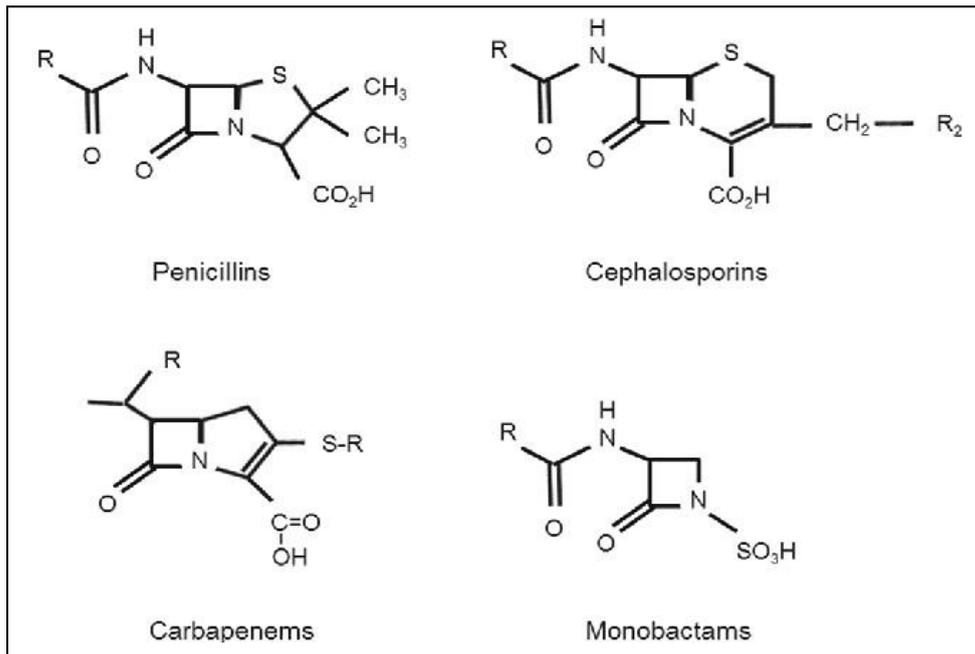
### 1-Histoire

La découverte de la pénicilline est attribuée à Alexander Fleming qui, en septembre 1928, a observé que la croissance de *Staphylococcus aureus* dans certains tubes à essai utilisés pour la culture était inhibée par la présence du champignon *Penicillium notatum*. Plus tard, les deux chercheurs Florey et Chain ont purifié la pénicilline qui est devenue la première molécule de  $\beta$ -lactamines utilisée (Suarez et Gudiol, 2009 ; Kong et *al.*, 2010 ; Abraham et *al.*, 1941.).

### 2- Structure chimique et classification

Les membres de cette famille d'antibiotiques contiennent un cycle à 3 atomes de carbone et un atome d'azote hautement réactif (noyau azétidine nitré à quatre sommets). C'est le cycle  $\beta$ -lactame, l'élément commun de cette famille. Selon la nature de l'hétérocycle accolé à ce cycle, on distingue quatre sous-familles (figure1) : les pénames, les céphèmes, les pénèmes, les monobactames, auxquels on peut ajouter les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases qui n'ont pas d'activité antibactérienne formelle, mais préviennent la dégradation de la  $\beta$ -lactamine qui leur est associée (Etebu et Ariekpar, 2016 ; Woloch et Montang, 2018).

Ces molécules ont un effet bactéricide. Le noyau  $\beta$ -lactame interfère avec les protéines essentielles à la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne et inhibe leur croissance (Etebu et Ariekpar, 2016 ; Woloch et Montang, 2018).



**Figure 1.** Structure de base des  $\beta$ -lactamines (Kim et *al.*, 2014)

### 2.1-Pénames (Pénicillines)

Les pénames sont un grand groupe de  $\beta$ -lactamines qui incluent les pénicillines. Par conséquent, les pénicillines sont classées en fonction des différents substituants fixés à l'acide 6-aminopénicillanique, ce qui détermine des propriétés pharmacologiques et antibactériennes différentes. Il y a plusieurs sous-classes, dont les plus utilisées sont aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) les uréidopénicillines (pipéracilline) et les amidinopénicillines (pivmecillinam) (Ruppé, 2010 ; Chemelle, 2013).

### 2.2-Chéphèmes (Céphalosporines)

Les céphalosporines diffèrent chimiquement des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine pour former le noyau céphème. Elles possèdent en effet pour structure commune l'acide 7-amino céphalosporanique. Par rapport à l'acide 6 aminopénicillanique, la particularité du noyau céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les propriétés antibactériennes différentes des céphalosporines, justifiant leur distinction fonctionnelle en plusieurs générations, de spectre et d'intérêt clinique variables (Cavallo et *al.*, 2004 ; Chemelle, 2013 )

- ❖ Les céphalosporines de première génération (C1G) : actives sur les bactéries à Gram positif. Exemples : céfalotine, céfazoline et céfalexine ;
- ❖ Les céphalosporines de deuxième génération (C2G) : ont un spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif. Exemples : céfamandole, céfuroxime, céfoxitine et céfotétan ;
- ❖ Les céphalosporines de troisième génération (C3G) : elles ont un spectre étendu à la plupart des entérobactéries. Exemples : céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone et céfopérazone ;
- ❖ Les céphalosporines de quatrième génération (C4G) : relativement stables à l'hydrolyse des céphalosporinases. Elles restent actives sur les entérobactéries ayant acquis une résistance aux C3G par hyperproduction d'une céphalosporinase. Exemples : céfépime et cefpirome (Ruppé, 2010).

### 2.3- Pénèmes

Les pénèmes, caractérisés par la présence d'un cycle penta-atomique insaturé collé au cycle  $\beta$ -lactame, ont un spectre très large et sont très stables à l'hydrolyse de la plupart des  $\beta$ -lactamases. En fonction de l'hétéroatome fixé en position 1, on distingue trois groupes : les sulfopénèmes, les carbapénèmes et oxapénèmes. Les carbapénèmes possèdent un très large spectre anti-bactérien doublé d'une grande stabilité envers la quasi-totalité des  $\beta$ -lactamases. Trois molécules sont commercialisées : l'imipénème, le méropénème et l'ertapénème (Bryskier, 1999 ; Cavallo et *al.*, 2004 ; Wolff et *al.*, 2009).

### 2.4- Monobactames

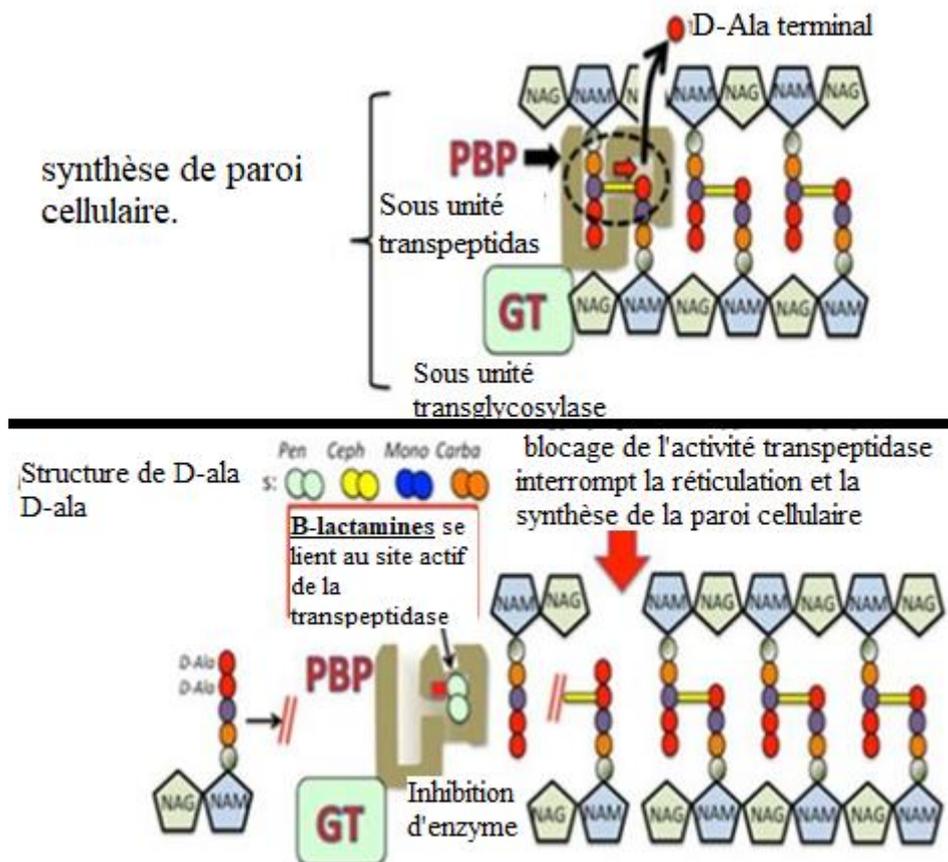
Les monobactams sont des  $\beta$ -lactamines monocycliques résistants aux  $\beta$ -lactamases. Ils sont actifs contre les bactéries à Gram négatif, mais pas contre celles à Gram positif ou les anaérobies. Le premier médicament à être disponible était l'aztréonam (Ruppé, 2010 ; Fernandes et *al.*, 2013).

### 2.5- Inhibiteurs de $\beta$ -lactamases

Ce sont des  $\beta$ -lactamines de forte affinité pour certaines  $\beta$ -lactamases mais avec une activité antibactérienne intrinsèque plus faible. L'acide clavulanique est une molécule qui présente une analogie structurale avec les  $\beta$ -lactamines et agit également comme des substrats suicides des  $\beta$ -lactamases. L'acide clavulanique est accompagné avec l'amoxicilline dans l'Augmentin et la ticarcilline dans le Claventin, alors que la Tazocilline contient le tazobactam utilisé avec la pipéracilline. L'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam ont un spectre d'inhibition limité aux pénicillinases (Cavallo et *al.*, 2004 ; Woloch et Montang, 2018; Ruppé, 2010)

### 3-Mode d'action

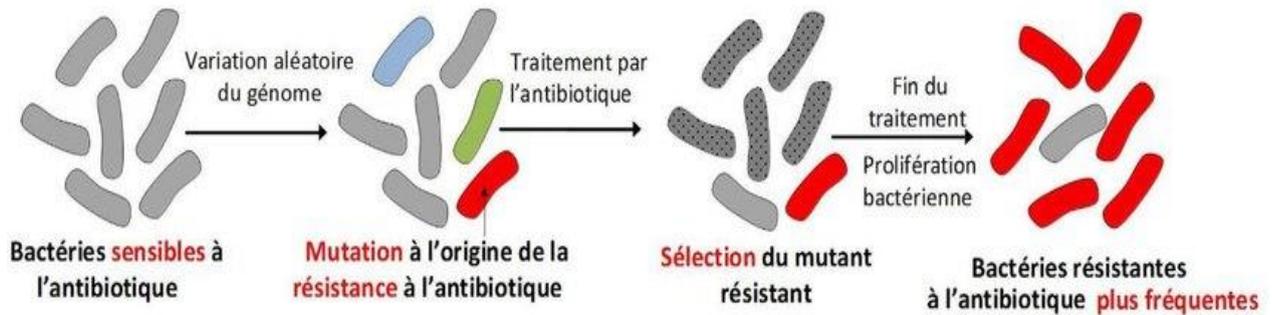
Les  $\beta$ -lactamines interfèrent avec l'étape finale de la synthèse du peptidoglycane (PG), polymère majeur de la paroi bactérienne, par inactivation des enzymes appelées protéines liant les pénicillines (PLP) qui sont des enzymes essentielles de la synthèse du peptidoglycane bactérien, possédant une activité transglycosylase, transpeptidase et carboxypeptidase. Les  $\beta$ -lactamines par leur forte affinité pour le site catalytique des PLP bloquent les activités transpeptidase et carboxypeptidase, en raison de leur analogie structurale avec le substrat de ces enzymes, le dipeptide terminal (D-Ala-D-Ala) du pentapeptide (figure 2). Elles se comportent comme des substrats « suicides » de ces enzymes. Les  $\beta$ -lactamines se lient au site actif de la PLP pour former un complexe précovalent, puis le cycle  $\beta$ -lactame s'ouvre pour former une liaison covalente irréversible avec la sérine de la poche catalytique des PLP. L'inhibition des PLP produit un arrêt de la synthèse du peptidoglycane et de la croissance bactérienne. L'effet bactéricide résulterait d'une activation dérégulée d'autolysines conduisant à la lyse bactérienne (Tipper, 1985 ; Cavallo et *al.* 2004 ; Woloch et Montang, 2018).



**Figure 2.** Mécanisme d'action des  $\beta$ -lactamines (Zango et *al.*, 2019).

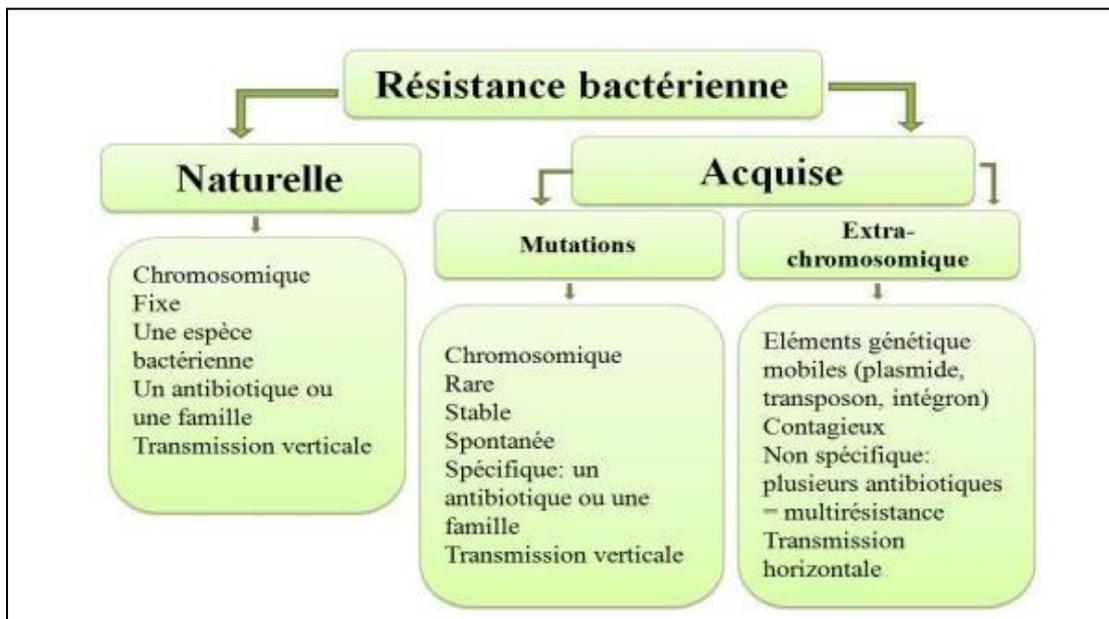
#### 4- Résistance bactérienne aux antibiotiques

Comme illustré dans la figure3, la pression de sélection exercée par les antibiotiques joue un rôle essentiel dans l'apparition de souches résistantes puisqu'elle permet leur sélection.



**Figure3.** Pression de sélection des antibiotiques (Mulvey et Simor, 2009).

Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques : la résistance intrinsèque (naturelle) et la résistance acquise (figure4).



**Figure 4.** Types de résistance bactérienne aux antibiotiques (Azmoun, 2016)

#### **4.1-Résistance naturelle**

C'est une caractéristique spécifique d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle est portée par les chromosomes. Elle est stable et transmise à la descendance. Elle constitue un caractère d'identification des bactéries et détermine leur phénotype (Kakurinov, 2014).

#### **4.2-Resistance acquise**

La résistance bactérienne acquise à certains antibiotiques est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée qui sont généralement sensibles à cet antibiotique.

L'utilisation abusive d'antibiotiques engendre l'adaptation des bactéries à la pression exercée par ces antibiotiques. La sélection et la dissémination des bactéries les plus résistantes modifient leur génome soit par mutation au niveau du chromosome ou acquisition de gènes étrangers à partir d'autres bactéries (transfert horizontal) (Jarlier, 2019).

##### **4.2.1- Resistance chromosomique**

C'est le résultat d'une mutation rare, plus ou moins spontanée et stable. L'antibiotique révèle souvent la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes. La transmission de la résistance chromosomique se fait de bactérie-mère aux bactéries filles (Barer, 2019).

##### **4.2.2- Résistance extra chromosomique**

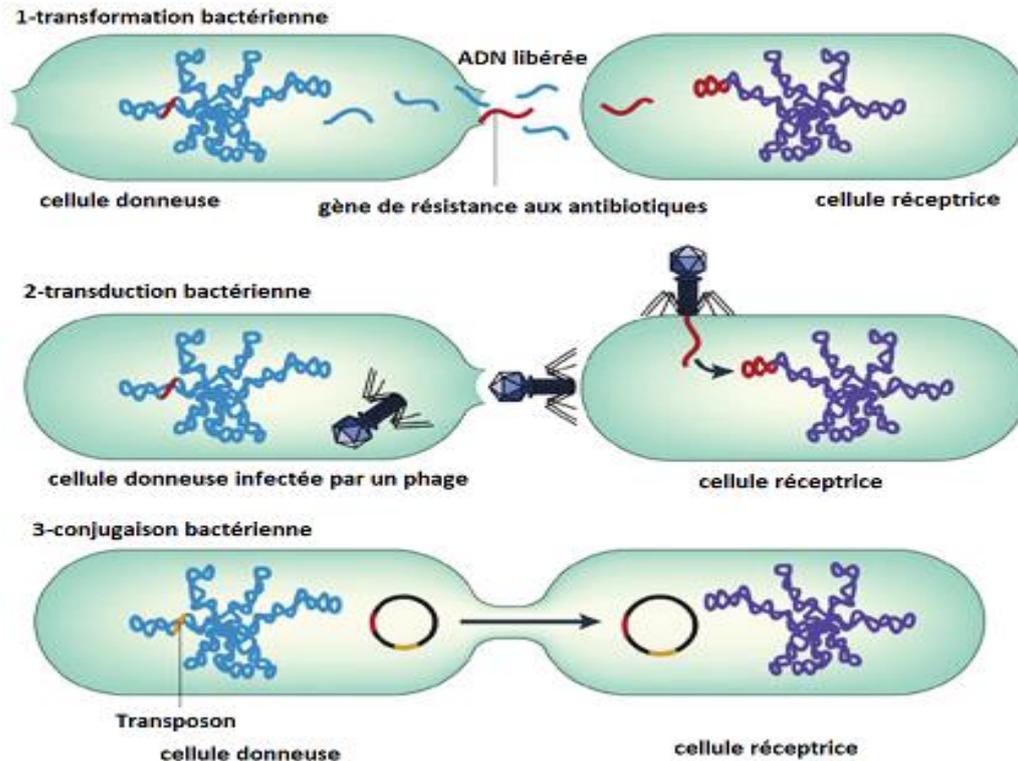
Ce type de résistance peut provenir de l'acquisition d'ADN étranger par des plasmides, bactériophages ou transposons. On parle alors de transfert horizontal (qui s'effectue entre des bactéries sexuellement différenciées) de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation (figure5) (Guillemot, 2005).

###### **4.2.2.1- Conjugaison**

La conjugaison est un transfert du matériel génétique extra-chromosomique (l'ADN plasmidique). Elle nécessite un contact étroit entre une bactérie réceptrice et une bactérie donatrice par un pili (Hobot, 2015).

###### **4.2.2.2- Transduction**

La transduction est le processus par lequel l'ADN bactérien est transféré d'une cellule bactérienne à une autre au moyen d'un bactériophage. Il y a deux types de transduction : la transduction généralisée et la transduction spécialisée (Murray et *al.*, 2021).



**Figure 5.** Mécanismes génétiques de la résistance acquise (Furuya et Lowy, 2006)

#### -Transduction généralisée :

Elle se produit au cours du cycle lytique d'un phage virulent ou tempéré et transfère n'importe quelle partie du génome bactérien (Murray, 2021).

#### - Transduction spécialisée :

On parle de transduction spécialisée si les phages concernés transfèrent des gènes particuliers (généralement ceux adjacents à leurs sites d'intégration dans le génome) (Murray, 2021).

#### 4.2.2.3- Transformation

La transformation génétique chez les bactéries est un processus qui consiste à capter l'ADN libre dans l'environnement et à l'incorporer dans une cellule réceptrice. La capacité d'incorporer un ADN exogène est appelée compétence (Parker, 2001).

## 5- $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE)

Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont définies comme des enzymes produites par certaines bactéries qui sont capables d'hydrolyser la pénicilline et les céphalosporines de 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> génération et l'aztreonam. Elles sont inhibées par les inhibiteurs de la  $\beta$ -lactamase tels que l'acide clavulanique (Paterson et Bonomo, 2005 ; Ghafourian et *al.*, 2015). Les EBLSE sont généralement des bactéries multi-résistantes (BMR), c'est-à-dire elles résistent à au moins une molécule d'antibiotique appartenant à plus de trois classes différentes parmi les classes habituellement actives sur elles (Garnier, 2020).

### 5.1-Classification des BLSE

Parmi les classifications proposées, les plus utilisées sont la classification structurale d'Ambler basée sur la séquence peptidique du site enzymatique ou sur la séquence totale du gène codant la  $\beta$ -lactamase et la classification fonctionnelle par groupes d'après Bush-Jacoby-Medeiros basée sur des critères de profils de substrat et de sensibilité à certains inhibiteurs (Ambler, 1980 ; Bush et *al.*, 1995)

D'après Ambler (figure 6), les  $\beta$ -lactamases de classe A, C et D comportent une sérine active responsable de l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame. Par contre, les  $\beta$ -lactamases de classe B ont besoin d'un ou deux atomes de zinc ionisé ( $Zn^{2+}$ ) pour hydrolyser leur substrat et sont ainsi couramment appelées sous le nom de « métallo-enzymes » (Ruppé, 2010).

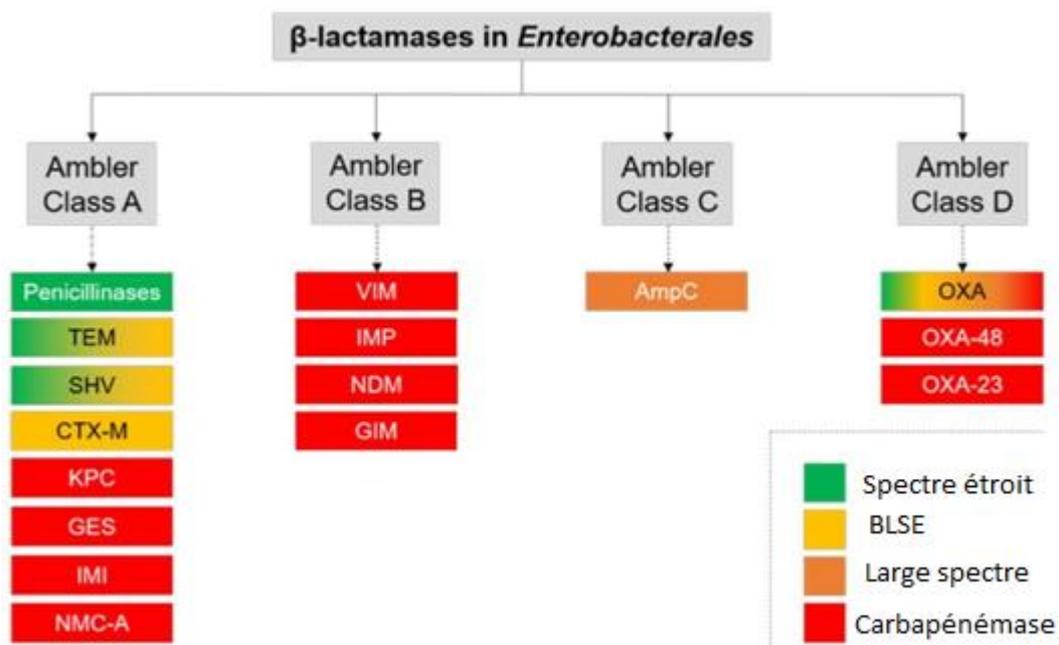
- Classe A sont sensibles à l'action de l'acide clavulanique, du sulbactam et du tazobactam. On trouve TEM, SHV, des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) comme les CTX-M et des carbapénèmases comme KPC et autres ;
- Classe B : les carbapénèmases comme IMP et VIM ; elles sont inhibées par l'EDTA ;
- Classe C : les céphalosporinases de type AmpC, inhibées par la cloxacilline ;
- Classe D : sont des oxacillinases.

## 5.2-Principaux types de BLSE 5.2.1-BLSE de type TEM

Ce sont de  $\beta$ -lactamases de type TEM (classe A, Ambler) qui appartiennent à la classe 2be de

Bush/Jacoby. La plupart des BLSE de ce type dérivent par quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2). Actuellement, il y a plus de 140 enzymes. Ces mutations

rendent l'enzyme capable d'hydrolyser les C3G, mais aussi plus vulnérable à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique) (Rodriguez et Struelens, 2006).



**Figure 6.** Classification d'Ambler des  $\beta$ -lactamases chez les entérobactéries (Noster et al., 2021)

### 5.2.2-BLSE de type SHV

Ces enzymes dérivent par mutations ponctuelles de la BLS, SHV-1. Depuis leur apparition en 1983 (SHV-2), de nombreux variants ont été décrits à ce jour. Les BLSE de type SHV, comme celles de type TEM, appartiennent au groupe 2be de la classification de Bush/Jacoby et possèdent le même spectre d'activité (Liakopoulos et al., 2016).

### 5.2.3-BLSE de type CTX-M

Le nom CTX reflète la puissante activité hydrolytique contre le céfotaxime. Ils s'inhibent mieux avec l'inhibiteur de  $\beta$ -lactamase tazobactam que le sulbactam et le clavulanate. Sur la base de leur apparentement de séquences d'acides aminés, il semble qu'elles dérivent des céphalosporinases chromosomiques des bactéries du genre *Kluyvera*. Ce sont des  $\beta$ -lactamases de classe A qui tiennent leur nom de par leur hydrolyse préférentielle de la céfotaxime par rapport à la ceftazidime (« CTX ») et « M » pour leur lieu d'isolement (Munich) (Bush et *al.*, 1995 ; Rodriguez et Struelens, 2006 ; Ruppé, 2010).

## II-Matériel et méthodes

### 1- Objectif de l'étude

Le but de notre étude est d'isoler, sur la base d'un screening à la céfotaxime, des souches d'EBLSE à partir des abats de poulets de chair (foies) commercialisés dans la ville de BBA et d'étudier leur sensibilité vis-à-vis- de 8 molécules d'antibiotiques.

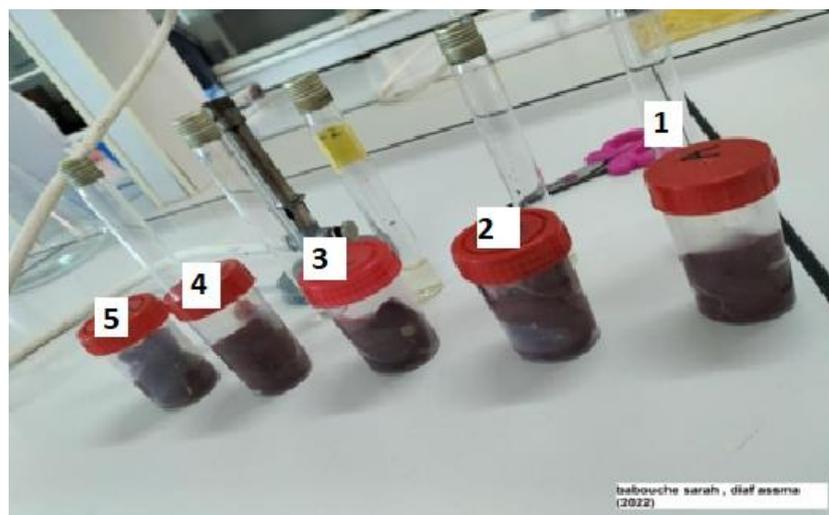
### 2- Lieu et période de l'étude

L'étude s'est étalée sur une période de 3 mois, du 28 mars au 5 juin 2022. Elle a été menée dans la ville de BBA. Les différentes analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) de l'université de Mohamed EL-Bachir El- Ibrahim, BBA.

### 3- Echantillonnage

L'étude a été menée sur un total de 39 échantillons d'abats de poulet de chair (foies) provenant de 39 boucheries instaurés au niveau de 4 marchés de la ville de BBA, à savoir : la graffe, l'exucatif, les 400 et Bab soug. Les échantillons ont été collectés dans des pots stériles (figure7) et acheminés immédiatement sous régime de froid au laboratoire de la faculté pour être analysés.

Pour chaque échantillon, la date de prélèvement, la date de l'éviscération, l'abattoir et la ferme d'approvisionnement sont donnés en annexe1.



**Figure 7.** Prélèvement des organes de foie.

#### 4- Matériel (Annexe2).

#### 5- Analyses bactériologiques

L'isolement et l'identification des différentes souches BLSE sont réalisés selon le protocole préconisé par (Chenouf et *al.*, 2021).

##### 5.1 Enrichissement

D'abord, la surface des organes est flambée puis l'organe est coupé stérilement en petits dés à l'aide d'une pince et de ciseaux stériles. Le milieu d'enrichissement, un tube de BHIB, est ensuiteensemencé par l'introduction des petits dés d'organe (figure8).



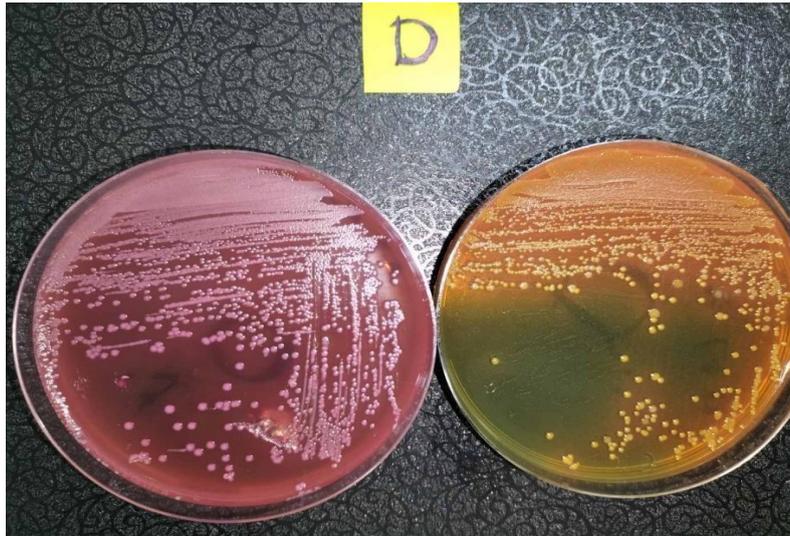
**Figure 8.** Enrichissement des organes dans le BHIB

##### 5.2 Isolement

A l'aide d'une anse de platine, une goutte du milieu préalablement enrichi est ensemencée sur la gélose Hekton ou Mac Conkey additionnée de céfotaxime (2 µg/mL) par la méthode de stries (figure9), comme recommandé par (Carvalho et *al.*,2021). L'incubation se fait pendant 18 à 24h à 37°C.

##### 5.3. Purification

La purification se fait par des repiquages successifs sur le même milieu d'isolement ou à défaut sur GN à l'aide d'une anse de platine Les boîtes sont ensuite envoyées à l'incubation pendant 24 h à 37°C.



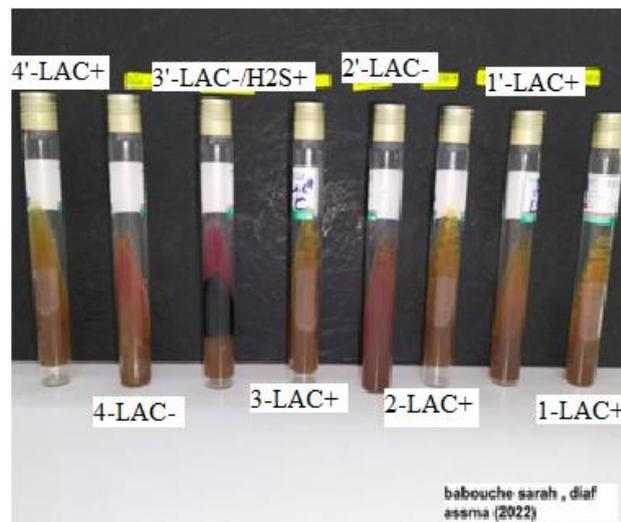
**Figure9.** Isolement sur deux milieux Hektoen et Mac Conkey.

#### 5.4- Identification des entérobactéries

##### 5.4.1- Identification biochimique classique

##### 5.4.1.1- Milieu TSI

La gélose TSI est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du glucose, du lactose et du saccharose, et sur la production de gaz et d' $H_2S$ . Lorsque l'un des glucides est fermenté, la baisse du pH fera passer le milieu de l'orange rougeâtre (la couleur originale) au jaune. Le thiosulfate de sodium dans le milieu est réduit par certaines bactéries en sulfure d'hydrogène ( $H_2S$ ), ce dernier réagit avec les ions ferriques dans le milieu pour produire du sulfure de fer, un précipité insoluble noir (figure10)



**Figure10.** Identification sur milieu TSI

### 5.4.1.2- Milieu Urée-Indole

Le milieu Urée Indole permet la mise en évidence de l'uréase, de la tryptophane désaminase et de la production d'indole.

Les bactéries possédant une uréase transforment l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu en présence du rouge de phénol (indicateur de pH). La production d'indole est mise en évidence par l'addition de réactif de Kovacs qui agit avec l'indole en donnant une coloration rouge dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive (figure11).



**Figure11.** Test d'indole

### 5.4.2- Identification par galerie API20E

L'API 20E (Analytical Profile Index) est un ensemble de petits tubes prêts permettant l'identification de micro-organisme par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.

Ce système comporte 20 cupules tests qui contiennent un milieu réactionnel déshydraté. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

- Cette étape de travail a été réalisée au cabinet vétérinaire privé MC-VET El-Eulma, Sétif.

## Mode opératoire

### - Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée 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 ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

### - Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ;
- Prélever des colonies sur le milieu TSI, en utilisant des cultures jeunes de 18-24 h à l'aide d'une pipette Pasteur ;
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

### - Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;
- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule;
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules);
- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de vaseline.
- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures (figure 12).

### -Lecture de la galerie

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture après addition des réactifs suivants :

- ❖ Une goutte de réactif TDA au test TDA ;
- ❖ Une goutte de réactif Kovacs au test IND ;
- ❖ Une goutte de réactif VP1 et VP2, et attendre au minimum 10 mn, au test VP.



**Figure12.** Inoculation et lecture de la galerie API20E

### - Interprétation de la galerie

L'identification est obtenue à partir du profil numérique qui est déterminé sur la fiche de résultats. Les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres.

La réaction d'oxydase, qui constitue le 21<sup>ème</sup> test, est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. Alors l'identification est faite à l'aide de :

- ✓ Catalogue analytique, en recherchant le profil numérique dans la liste des profils ;
- ✓ Logiciel d'identification API web™, en entrant manuellement le profil à 7 chiffre.

### 5.5. Antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (MH, IPA), selon les recommandations de CLSI, 2018. (Annexe3)

#### - Principe

La méthode de diffusion, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier (figure13).

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme, si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. Les antibiotiques utilisés sont résumés sur le tableau ci-après :

**Tableau 1.** Antibiotiques testés pour l'antibiogramme

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques testées	Classe d'antibiotique	Sigle	Charge du disque ( $\mu\text{g}$ )	Marque
<b><math>\beta</math>- lactamines</b>	Amoxicilline/ acide clavulanique	Pénicilline + inhibiteur de $\beta$ - lactamase	<b>AMC*</b>	20/10	Himedia, Inde
	Céfotaxime	Céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération (C3G)	<b>CTX*</b>	30	Bio-rad, France
	Ceftazidime		<b>CAZ*</b>	30	Bioanalyse, France
<b>Phenicolés</b>	Chloramphénicol	/	CLO	30	Bioanalyse, France
<b>Quinolones</b>	Ciprofloxacine	Quinolone de 2 <sup>ème</sup> génération	CIP	5	Himedia, Inde
<b>Aminosides</b>	Kanamycine	/	KAN	30	Himedia, Inde
	Streptomycine	/	STR	10	Bioanalyse, France
	Tobramycine	/	TOB	10	Bioanalyse, France

\* : Antibiotiques utilisés pour la détection des BLSE

**Figure 13.** Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme**a- Inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur GN, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et on décharge l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% (figure14);
- Nous homogénéisons la suspension bactérienne, à l'aide d'un agitateur ;
- L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible,

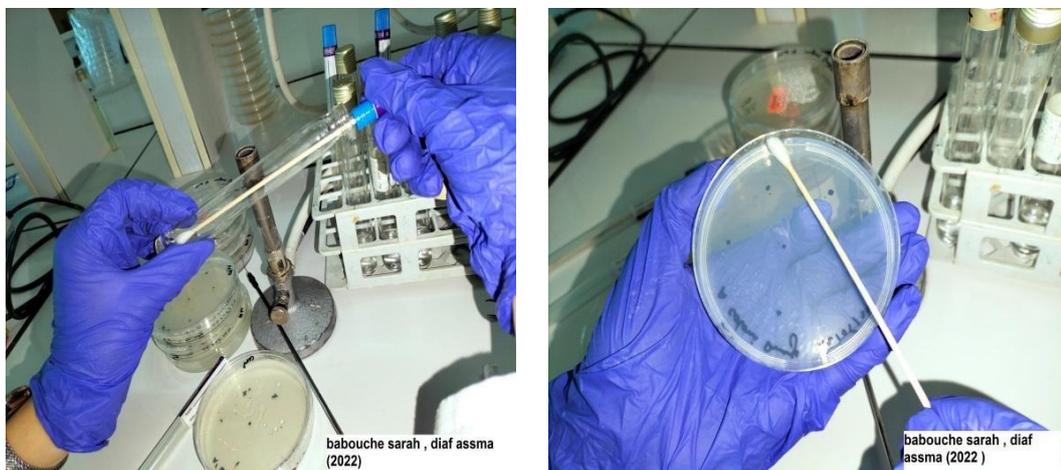
- ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.



**Figure 14.** Préparation de l'inoculum

### **b-Ensemencement**

- Nous trempions un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- Nous l'essorons en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum (figure 15) ;
- Nous frottons l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées (figure 15) et on répète l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même ;
- Nous finissons l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (2 fois) ;
- Dans le cas où nous l'ensemencions plusieurs boîtes de Pétri, il faut changer l'écouvillon à chaque fois.



**Figure 15.** Ensemencement pour l'antibiogramme

### c- Application des disques d'antibiotiques

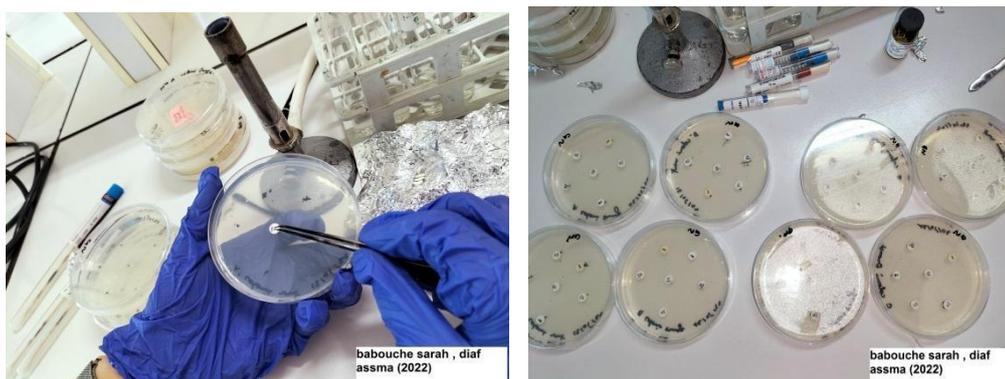
- Un maximum de 6 disques d'antibiotiques sont déposés sur une boîte de 90 mm de diamètre ;
- Les disques d'antibiotiques sont espacés de 25 mm, centre à centre ;
- Nous pressons chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application (figure 16);
- Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

### d- Incubation

Après diffusion de 30 minutes, l'incubation des boîtes se fait pendant 18 heures à 37°C.

### e-Lecture

- Nous mesurons avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle, à l'extérieur de la boîte fermée;
- Nous comparons ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de CLSI, 2018;
- Nous classons la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante (annexe 3).



**Figure 16.** Application des disques d'antibiotiques

### 5.6- Test de synergie

Le test de synergie permet la détection de BLSE chez une souche donnée par la mise en évidence d'une synergie entre un disque de céphalosporine de troisième génération (céftazidime, céfotaxime) et un disque contenant l'amoxicilline-acide clavulanique. Les disques d'antibiotiques sont disposés espacés sur la gélose MH (25 mm) : le disque d'Amoxicilline + acide clavulanique est placé au centre entouré par les disques de Céfotaxime(30 $\mu$ g) et de Céftazidime (30 $\mu$ g). La boîte de Pétri est ensuite incubée pendant 24 heures à 37°C. Un test de synergie positif donne donc une image caractéristique, en « bouchon de Champagne » (figure17) entre l'amoxicilline + acide clavulanique et céftazidime et/ou céfotaxime

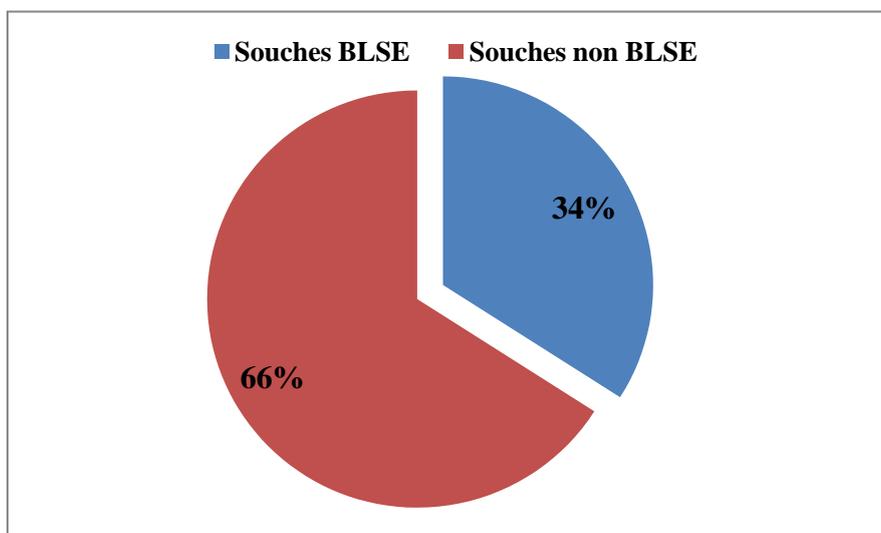


**Figure 17.** Image de synergie chez une EBLSE

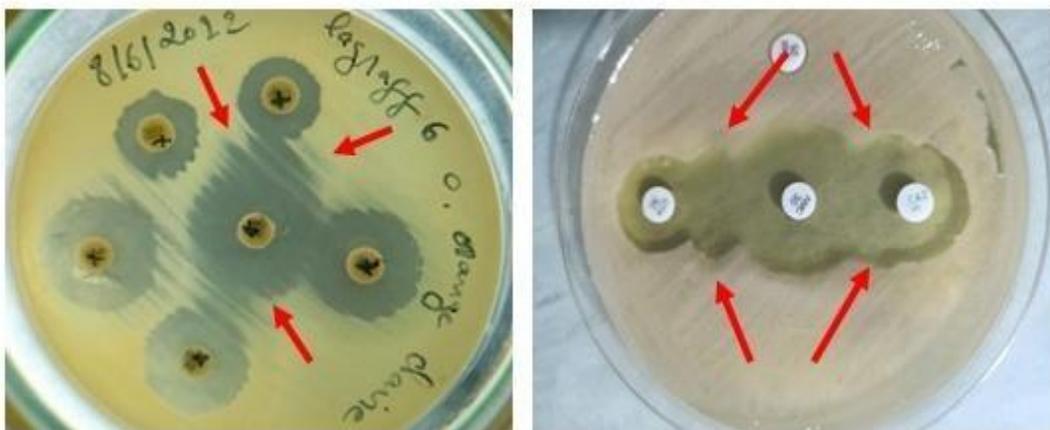
### III -Résultats et discussion

#### 1- Prévalence des souches productrices de BLSE

Parmi les 39 échantillons de foie de poulet analysés, 30 ont été contaminés (77%). Le screening à la céfotaxime a permis de dévoiler la présence de 47 souches d'entérobactéries résistantes à la céfotaxime (CTX<sup>R</sup>), dont 16 BLSE, soit une prévalence évaluée à 34% (figure 18). Les résultats de l'antibiogramme révélant l'image de synergie caractéristiques des EBLSE sont donnés dans la figure 19.



**Figure 18.** Fréquence d'isolement des souches BLSE



**Figure 19.** Image de synergie révélée chez une souche EBLSE.

## 2- Répartition des souches BLSE selon l'espèce

L'étude bactériologique a permis d'isoler 16 souches d'EBLSE. Les différents tests d'identification (galerie classique et API20E) ont révélé la présence de 2 espèces différentes dont la répartition est résumée dans le tableau 3 et la figure 20.

**Tableau2.** Répartition des souches BLSE isolées selon l'espèce.

Souches d'EBLSE isolées	Nombre des souches	Pourcentage des souches isolées
<i>Escherichia coli</i>	12	75%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	25%
<b>Total</b>	16	100%



**Figure 20.** Identification de *K. pneumoniae* (en haut) et d'*E. coli* (en bas) par galerie API20.

A l'heure actuelle, nous assistons à un phénomène qui concerne l'augmentation du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques, aussi bien chez l'homme que chez l'animal, et à l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance. Il s'agit d'un problème de santé publique extrêmement préoccupant, qui ne cesse d'affecter de nombreux pays, même ceux disposant des meilleurs structures sanitaires.

Dans la présente étude, le taux d'isolement des EBLSE est estimé à hauteur de 34%. Cette valeur est hautement supérieure à celles communiquées dans la littérature. (Chenouf et al., 2021) ont enregistré des taux de 5,9 % et 3,7 % lors de leur étude sur le foie de poulet collecté dans la région de Djelfa. Des fréquences de 1,6 % et de 26,2 % d'*E. coli* producteurs

de BLSE isolées à partir des échantillons de poulets atteints de colibacillose et de poulets de chair sains ont été signalés respectivement par (Belmahdi et *al.*, 2016) et (Halfaoui et *al.*, 2017). De même, un taux de 12% a été communiqué lors d'une étude portant sur les sandwichs contenant de la viande, provenant de différentes régions de la ville de Béjaia par (Rebah et *al.*, 2018). Cette différence pourrait être due à de nombreuses variables, notamment les conditions d'échantillonnage, le nombre d'échantillons inclus dans l'étude ainsi que les méthodes d'isolement.

L'émergence de souches productrices de BLSE est expliquée par l'usage excessif des  $\beta$ -lactamines notamment les céphalosporines dans les élevages avicoles pour compenser le manque d'efficacité des autres antibiotiques défaillants.

L'espèce *E.coli* a enregistré le taux d'isolement le plus élevé, avec 75%. Nos résultats sont en accord avec ceux publiés par (Messai et *al.*, 2015), lors de leur étude menée dans les abattoirs de Sétif où ils ont constaté que le taux d'isolement d'*E.coli* a été évalué à 90%. Une étude similaire a été réalisée au niveau de quatre élevages avicoles de la wilaya de Bejaia par (Belmahdi et *al.*, 2016) où 20 isolats d'*E.coli* ont été isolés sur les 61 prélèvements d'écouvillonnages intestinaux. De même, nos résultats rejoignent ceux communiqués lors d'une recherche réalisée en Turquie, où les BLSE les plus répandues ont été identifiées comme : *E.coli* (80%), suivie par *Enterobacter cloacae* (9,1%), *Citrobacter braakii* (5,5%) et *Klebsiella pneumoniae* (3,6%) (Tekiner et *al.*, 2016).

Concernant les modes de transmission de ce germe, les causes sont très variées le long de la chaîne de production avicole. Ce germe est un habitant courant du tractus intestinal chez les humains et les animaux et peut être facilement disséminé dans différents écosystèmes à travers la chaîne alimentaire et via l'eau. Il peut aussi pénétrer au tractus respiratoire par inhalation de particules de poussière contaminées par des *E.coli* excrétées du tractus digestif d'animaux sains. Les intestins sont aussi un réservoir important pour les *E.coli* pathogènes aviaires (APEC). En outre, la saignée, l'échaudage et l'éviscération sont considérées comme des sources principales de contamination. La contamination peut être due au nettoyage ou à la désinfection mal effectuée des bacs et la contamination par les fientes. Au cours de l'éviscération, une mauvaise manipulation peut provoquer la contamination fécale des carcasses et des abats dû à la perforation de l'intestin. Tous ces constats affirment que les abats de poulet de chair constituent un réservoir potentiel de germes résistants et mettent

l'accent sur leur risque zoonotique du fait qu'ils peuvent être transmis à l'homme via l'alimentation (Messai et *al.*, 2015 ; Belmahdi et *al.*, 2016 ; Chenouf et *al.*, 2021).

### 3- Résultats de l'antibiogramme

#### Fréquence de résistance par antibiotique

Les résultats de l'antibiogramme réalisé selon la méthode de diffusion en milieu gélosé à l'encontre de 8 molécules antibiotiques sont visualisés dans le tableau 3 et annexe 4.

**Tableau 3.** Fréquences de résistances et de sensibilité des souches d'EBLSE isolées.

Familles	Antibiotiques testés	Nombre des souches =16	
		R+I	S
<b><math>\beta</math>-lactamines</b>	<b>Amoxicilline-Ac clavulanique*</b>	1(6%)	15(94%)
	<b>Céftazidime*</b>	8(50%)	8(50%)
	<b>Céfotaxime*</b>	16(100%)	0(0%)
<b>Aminosides</b>	Kanamycine	15(94%)	1(6%)
	Streptomycine	14(88%)	2(12%)
	Tobramycine	10(63%)	6(37%)
<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol	12(75%)	4(25%)
<b>Quinolones</b>	Ciprofloxacine	13(81%)	3(19%)

\* : Antibiotiques utilisés pour la détection des BLSE

Les 16 souches d'EBLSE isolées ont exprimé des niveaux de résistance différents vis-à-vis de plusieurs types d'antibiotiques. Nous suggérons de classer les résultats en 3 groupes comme recommandé par (Saberfar et *al.*, 2008)

- **Groupe 1** : Il comprend les antibiotiques ayant de **70 à 100%** de résistance. Ces antibiotiques sont : la Céfotaxime (**100%**), la Kanamycine (**94%**), la Streptomycine (**88%**), le Chloramphénicol (**75%**) et la Ciprofloxacine (**81%**) ;

- **Groupe 2** : Il comprend les souches qui expriment des niveaux moyens de résistance (**30 à 70%**). Il est représenté par Tobramycine (**63%**) la Céftazidime (**50%**) ;

- **Groupe 3** : Il comprend les niveaux les plus bas de résistance (de **0 à 30%**). C'est l'Amoxicilline- Acide clavulanique (**6%**).

D'après cette classification, on déduit que le premier groupe renferme le nombre le plus élevé d'antibiotiques (5antibiotiques), ce qui témoigne de la situation inquiétante de l'augmentation de la résistance bactérienne et la diminution de l'efficacité de ces antibiotiques. En revanche, l'association de l'Amoxicilline- Acide clavulanique reste la molécule la plus active sur nos souches. Cela la classe en premier choix dans le traitement des infections sévères à bactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi. Cependant, certaines observations sont considérées comme inquiétantes telles que la résistance à la ciprofloxacine ainsi qu'au chloramphénicol. Plusieurs auteurs en Algérie soulignent cette émergence de résistance des entérobactéries mais à des niveaux différents (tableau 4).

**Tableau4.** Fréquence d'antibiorésistance d'entérobactéries isolées du poulet en Algérie vis à vis de quelques antibiotiques.

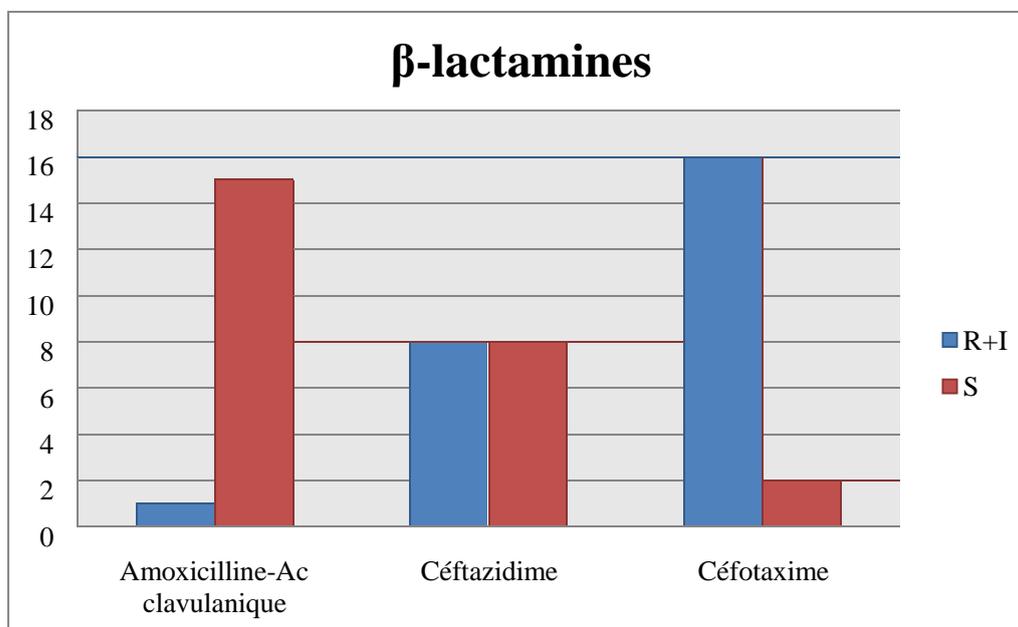
Antibiotiques	Chenouf et al. (2016)	Messai et al. (2015)	Belmahdi et al. (2016)	Nos résultats
Amoxicilline/ acide clavulanique(AMC)	57,77%	90%	> 90%	(6%)
Chloramphénicol(CL)	22,22%	23%	ND	(75%)
Ceftazidime(CAZ)	93,33%	ND	>90%	(50%)
Céfotaxime (CTX)	ND	ND	15%	(100%)

ND : Non déterminé.

### 3.2. Fréquence de résistance par familles d'antibiotiques

#### 3.2.1. Résistance aux $\beta$ -lactamines

Les taux de sensibilité et de résistance des différentes souches à l'encontre de la famille des  $\beta$ -lactamines sont mentionnés dans la figure 21.



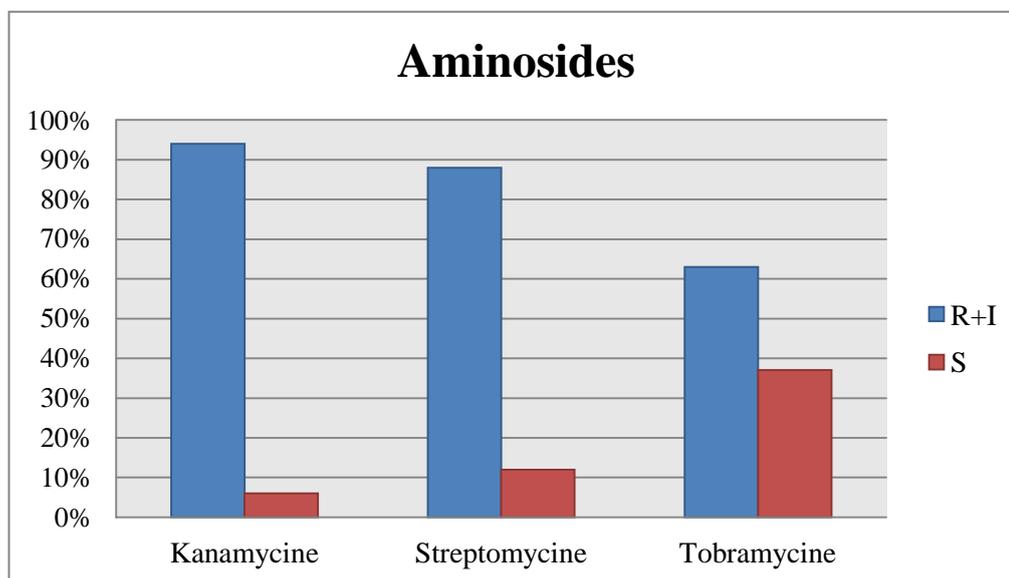
**Figure 21.** Taux de résistance des souches EBLSE aux  $\beta$ -lactamines.

Il s'agit de la famille la plus ancienne et la plus fréquemment utilisée dans le monde, pour son large spectre antibactérien, son activité bactéricide, son faible toxicité et le vaste choix de molécules disponibles. Comme il a été déjà indiqué dans la partie bibliographique de ce mémoire, le mécanisme de résistance aux  $\beta$ -lactamines le plus répandu chez les entérobactéries est la production d'enzymes spécifiques « les  $\beta$ -lactamases » pour décomposer le noyau  $\beta$ -lactame et le rend inactif (Tekiner et *al.*, 2016). Cette résistance est due à la forte utilisation de ces molécules en raison de la présence fréquente, dans les élevages de volailles, des infections virales qui entraînent inévitablement généralement des infections bactériennes secondaires, principalement la colibacillose causée par *E. coli* (Halfaoui et *al.*, 2017 ; Chenouf et *al.*, 2021). La forte résistance des souches à la céfotaxime suggère l'implication du gène *bla*<sub>CTX-M</sub> qui connaît, depuis les années 90, une dissémination et une émergence énormes. Pour ce qui est des 31 souches qui se sont révélées CTX<sup>R</sup> avec absence de l'image de synergie, ceci est expliqué par l'implication d'un autre type d'enzymes appelées les Céphalosporinase chromosomiques (AmpC) (Carvalho et *al.*, 2021). Cependant, une étude

moléculaire demeure nécessaire pour connaître les gènes codant ces résistances.

### 3.2.2. Résistance aux aminosides

Les données relatives aux aminosides sont résumées dans la figure 22.



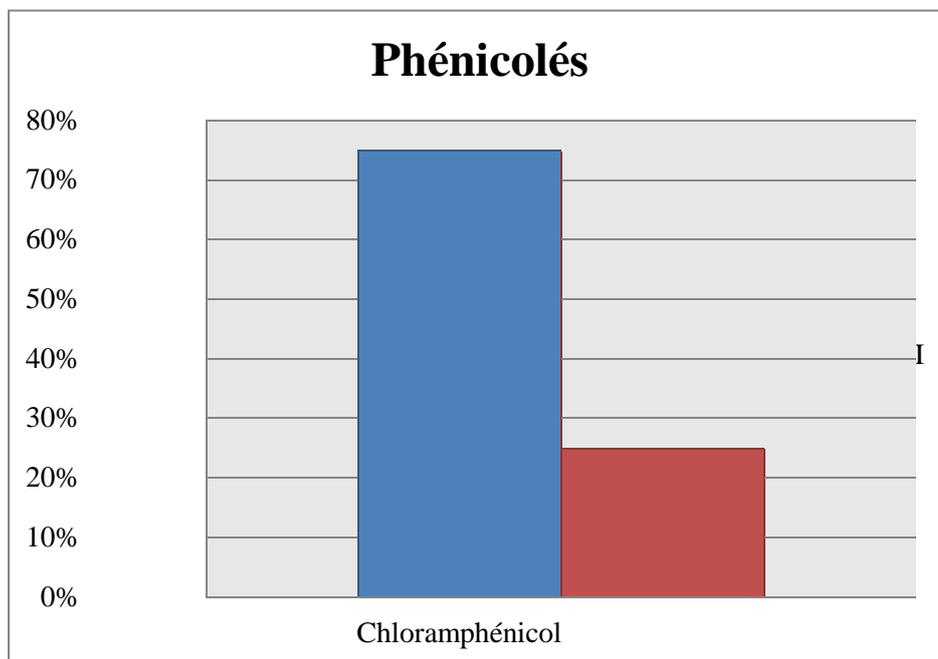
**Figure 22.** Taux de résistance des souches EBLSE aux aminosides

Les aminosides sont les molécules les plus étudiées dans le cadre du combat contre les bactéries à Gram négatif. Ces molécules ont été spécialement conçues pour le traitement des infections du tractus urinaire. Généralement, ce type de médicament est utilisé avec une pénicilline ou une céphalosporine (Young et *al.*, 1984). Les résistances enregistrées sont inquiétantes car ce sont des antibiotiques puissants et à large spectre. Trois mécanismes de résistance pourraient être impliqués dans ces résistances (Chenouf, 2016):

- Modification de la cible due à des mutations au niveau ribosomique ou méthylation post-transcriptionnelle de l'ARN 16S ;
- Diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique ;
- Inactivation de l'antibiotique par modification enzymatique.

### 2.3.3. Résistance aux phénicolés

Pour les phénicolés, le taux de résistance vis-à-vis du chloramphénicol est de 75% (figure 23).



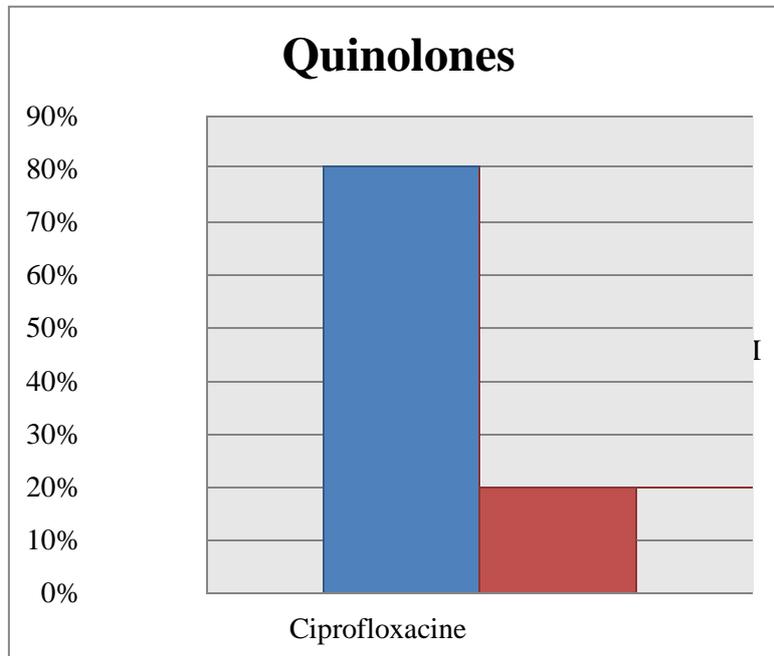
**Figure 23.** Taux de résistance des souches EBLSE aux phénicolés.

Le chloramphénicol, appelé à l'origine chloromycétine, est un antibactérien avec un large spectre d'activité contre les bactéries Gram négatif et à Gram positif. Son mécanisme d'action est par inhibition de la synthèse des protéines bactériennes en se liant aux ribosomes. Il a été considéré comme un antibiotique prometteur à large spectre. Plus tard, un certain nombre d'effets indésirables (Fitzgerald et Vera, 2006).

Le premier mécanisme de résistance bactérienne au chloramphénicol, et encore le plus fréquemment rencontré, est l'inactivation enzymatique par acétylation de l'antibiotique par différents types de chloramphénicol acétyltransférases (CATs). D'autres mécanismes ont également été décrits (Fitzgerald et Vera, 2006).

### 3.2.4. Résistance aux quinolones

Les résultats des souches isolées vis-à-vis des quinolones sont mentionnés dans la figure 24.



**Figure 24.** Taux de résistance des souches EBLSE aux quinolones.

Les quinolones sont des antibiotiques à large spectre actifs contre les bactéries Gram positif et Gram négatif. Ils exercent leur action en inhibant la synthèse des acides nucléiques bactériens, en perturbant les enzymes topoisomérase IV et ADN gyrase, et en provoquant la rupture des chromosomes bactériens. Cependant, comme d'autres agents antibactériens, les bactéries ont acquis une résistance aux quinolones en raison de la surutilisation de ces médicaments. Les mécanismes contribuant à la résistance aux quinolones sont causés par des mutations chromosomiques et/ou l'absorption de gènes plasmidiques qui modifient les cibles de la topoisomérase, ou réduisent l'accumulation de médicament soit par une diminution de l'absorption, soit par une augmentation de l'efflux (Pham *et al.*, 2019).

#### 4-Multi-résistances

Au total, 7 souches d'EBLSE se sont montrées multi-résistantes, soit un taux de 43.7% (annexe4). Cependant, cette valeur enregistrée ne peut refléter le taux réel de multi-résistance en raison du nombre réduit d'antibiotiques testés dans la présente étude. Les multi-résistances sont attribuées à l'usage anarchique et abusif des antibiotiques pour des fins thérapeutiques(ex : les  $\beta$ -lactamines et les fluoroquinolones contre les infections respiratoires), à titre préventif (ex : les sulfamides contre la salmonellose et la coccidiose), ou les deux, thérapeutique et prophylactique.

## Conclusion et Perspectives

L'étude que nous avons menée sur les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées des abats de poulet de chair collectés à Bordj Bou Arreridj a atteint les objectifs assignés.

Sur les 39 échantillons de foie analysés, 30 ont été contaminés (77%). Le screening à la céfotaxime a permis de dévoiler la présence de 47 souches d'entérobactéries résistantes à la céfotaxime (CTX<sup>R</sup>), dont 16 BLSE, soit une prévalence évaluée à 34%. Les différents tests d'identification ont révélé la présence de 2 espèces différentes, à savoir, *E. coli* (75%) et *Klebsiella pneumoniae* (25%). Ces constats confirment que le poulet de chair constitue un réservoir potentiel de ces bactéries résistantes et mettent l'accent sur son risque zoonotique du fait que ces bactéries peuvent être transmises à l'homme via la chaîne alimentaire.

Globalement, les isolats étaient souvent résistants à au moins un antibiotique. Les valeurs de résistance les plus élevées sont enregistrées vis-à-vis de la Céfotaxime (100%), la Kanamycine (94%), la Streptomycine (88%), la Ciprofloxacine (81%) et au Chloramphénicol (75%). Des niveaux de résistance moyens sont signalés pour Tobramycine (63%) et Céfotaxime (50%). En revanche, une résistance basse est observée à l'encontre de l'Amoxicilline- Acide clavulanique (6%). De plus, 7 souches d'EBLSE se sont montrées multi-résistantes, soit un taux de 43.7%.

Finalement, nous soulignons la nécessité d'une protection adéquate des animaux et des consommateurs contre les bactéries résistantes. A cet effet il faut mettre en œuvre la surveillance bactériologique des troupeaux de poulets, la restriction de l'utilisation anarchique des antibiotiques ainsi que l'introduction de bonnes pratiques de l'hygiène.

Cette étude ouvre la voie sur plusieurs perspectives de recherche, qui peuvent être développées :

- ❖ S'intéresser à l'identification moléculaire des gènes codant ces résistances ;
- ❖ Réaliser des enquêtes ayant pour but d'évaluer les conséquences

sanitaires, technologiques et économiques qui résultent de ces résistances bactériennes ;

- ❖ Elargir la zone d'étude en touchant d'autres denrées alimentaires d'origine animale et étudier la sensibilité des souches isolées en utilisant d'autres antibiotiques ;
- ❖ Développer et adapter d'autres méthodes thérapeutiques alternatives.

**Annexe1.** Origine et répartition des différents prélèvements de foie.

<b>Localisation du marché</b>	<b>Date de l'éviscération</b>	<b>Date de prélèvement</b>	<b>Nombre de prélèvements</b>	<b>Abattoir</b>
<b>La graffe</b>	03/04/2022	04/04/2022	03	El-Anasser, BBA
	03/04/2022	04/04/2022		Ain Arnat, Sétif
	03/04/2022	04/04/2022		Dahmani, BBA
	08/04/2022	09/04/2022	03	El Mokrani rue de Msila, BBA
	08/04/2022	09/04/2022		Medjana, BBA
	08/05/2022	09/05/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022	06	El Mokrani rue de Msila, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Medjana , BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
<b>L'exécutif</b>	17/04/2022	18/04/2022	05	Dahmani, BBA
	17/04/2022	18/04/2022		Dahmani, BBA
	17/04/2022	18/04/2022		Dahmani, BBA
	17/04/2022	18/04/2022		Dahmani, BBA
	17/04/2022	18/04/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022	07	Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA

## Annexe2. Matériels

	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
<b>Bab soug</b>	26/03/2022	27/03/2022	04	Dahmani, BBA
	26/03/2022	27/03/2022		Dahmani, BBA
	26/03/2022	27/03/2022		Dahmani, BBA
	26/03/2022	27/03/2022		Dahmani, BBA
	08/04/2022	09/04/2022	02	Dahmani, BBA
	08/04/2022	09/04/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022	03	Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	03/06/2022	04/06/2022		Dahmani, BBA
	<b>Les 400</b>	21/05/2022	22/05/2022	03
21/05/2022		22/05/2022	Dahmani, BBA	
21/05/2022		22/05/2022	Dahmani, BBA	
03/06/2022		04/06/2022	03	El Mokrani (Mechta Fatima), rue de Msila
03/06/2022		04/06/2022		Dahmani, BBA
03/06/2022		04/06/2022		Dahmani, BBA

## **Annexe2. Matériels**

### **1- Milieux de culture**

- BHIB (Brain Heart Infusion Broth) : un milieu d'enrichissement, Institut Pasteur d'Algérie (IPA) ;
- Hektoen : milieu d'isolement des entérobactéries Bio Scan, Algérie ;
- Mac Conkey, milieu sélectif d'isolement des *E. coli* (IPA);
- Céfotal (céfotaxime de 1g) utilisé pour le screening des BLSE;
- Milieu TSI (IPA);
- Milieu Urée-Indole (IPA);
- Milieu Mueller Hinton (MH) et gélose nutritive (GN) ;
- Galerie API20E (BioMérieux, France).

### **2- Produits de laboratoire et réactifs**

- Eau de javel, alcool 70°, eau physiologique 0,9% ;
- Céfotal (céfotaxime de 1g) utilisé pour le screening des BLSE;
- Eau de javel, alcool 70°, eau physiologique 0,9% ;
- Réactif Kovac's (IPA);
- Ecouvillons;
- Disques d'antibiotiques.

### **3- Appareillage et ustensiles:**

- Autoclave et étuve à 37C°
- Réfrigérateur et agitateur
- Bec Bunsen et vortex ;
- Pincés, anse de platine et portoirs.

### **4- Verrerie**

- Tubes à essais ;
- Erlenmeyer et éprouvette graduée ;
- Boîtes Pétri et pipettes Pasteur.

**Annexe3.** Diamètres critiques d'interprétation exprimés en mm (CLSI, 2018).

<b>Antibiotiques</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
<b>Amoxicilline + acide clavulanique</b>	$\geq 18$	14-17	$\leq 13$
<b>Céfotaxime</b>	$\geq 26$	23-25	$\leq 22$
<b>Céftazidime</b>	$\geq 21$	18-20	$\leq 17$
<b>Chloramphénicol</b>	$\geq 18$	13-17	$\leq 12$
<b>Acide nalidixique</b>	$\geq 19$	14-18	$\leq 13$
<b>Ciprofloxacine</b>	$\geq 21$	16-20	$\leq 15$
<b>Tétracycline</b>	$\geq 15$	12-14	$\leq 11$
<b>Gentamicine</b>	$\geq 15$	13-14	$\leq 12$
<b>Kanamycine</b>	$\geq 18$	14-17	$\leq 13$
<b>Streptomycine</b>	$\geq 15$	12-14	$\leq 11$
<b>Amikacine</b>	$\geq 17$	15-16	$\leq 14$
<b>Tobramycine</b>	$\geq 15$	13-14	$\leq 12$
<b>Trimitoprime (cotrimoxazole)</b>	$\geq 16$	11-15	$\leq 10$

<b>Code</b>	<b>Souche</b>	<b>AMC</b>	<b>CTX</b>	<b>CAZ</b>	<b>KAN</b>	<b>STR</b>	<b>CIP</b>	<b>CL</b>	<b>TOB</b>
<b>5</b>	<i>E. coli</i>	R	R	I	R	R	R	R	R
<b>13</b>	<i>E. coli</i>	S	R	S	R	R	R	R	R
<b>13'</b>	<i>E. coli</i>	S	R	S	R	R	R	I	R
<b>14</b>	<i>E. coli</i>	S	R	I	I	R	I	I	R
<b>14'</b>	<i>E. coli</i>	S	R	R	R	S	R	I	I
<b>16</b>	<i>E. coli</i>	S	R	S	R	R	R	S	S
<b>17</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	R	S	I	R	R	S	I
<b>17'</b>	<i>K pneumoniae</i>	S	R	I	S	S	S	S	S
<b>22</b>	<i>E.coli</i>	S	R	R	R	R	R	R	S
<b>23</b>	<i>E.coli</i>	S	R	S	R	R	S	S	I
<b>29</b>	<i>E.coli</i>	S	R	I	R	I	I	I	R
<b>30</b>	<i>E.coli</i>	S	R	S	I	R	I	I	R
<b>32</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	R	S	R	R	I	I	R
<b>32'</b>	<i>K.pneumoniae</i>	S	R	S	R	I	I	I	S
<b>39</b>	<i>E.coli</i>	S	R	R	R	R	I	I	S
<b>40</b>	<i>E.coli</i>	S	R	R	I	R	S	I	S

