



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 Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض 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

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologique

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé :

Isolement et antibiogramme d'entérobactéries
productrices de β -lactamases à spectre étendu
(BLSE) de plusieurs origines à BBA

Présenté par :

LAKHDARI Boutheyna & NEBBACHE Dounia & OUAHDI Imane

Soutenu le 24 / 06 / 2023, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Présidente:	Mme ABED Hanene	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrante:	Mme CHENOUF Nadia Safia	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Examinatrice:	Mme SOUAGUI Yasmina	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2022/2023

Remerciement

Dédicace:

Grâce à la volonté divine d'Allah notre dieu tout puissant et bienveillant qui m'a permis
d'achever et de présenter ce travail.

Je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents Ma très chère maman **Laldja** et mon chère papa **Moussa** pour leur
soutien et leur sacrifices

Qui m'ont accompagné durant les moments les plus pénibles de ce long parcours de mon
éducation, je ne saurai jamais assez-vous rendre vos bienfait, seulement que Allah vous
garde encore longtemps auprès de nous.

Mes chères sœurs : **Halima** et **Hadjer**

J'espère avoir le seuil de vos espérances, je vous remercie pour l'encouragement que vous
m'avez accordé.

A mon chère frère **Zin Eddine** Qui m'avez toujours soutenu et encouragé

A toute ma grande famille surtout mes cousines : **Nafissa, Nihed, Meriem, Loubna, Aya**
et **Roumaissa**.

A mes trinômes **Dounia** et **Boutheyna** et mes amies **Salsabil, Chaima** et **Ghada**

Je vous dis merci et je vous souhaite bonheur, réussite et prospérité. Aucun langage ne
saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je
vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et
de votre bonté exceptionnelle.

Et à tous ceux qui m'aiment et à toute personne qui m'a aidée.

Imane

Dédicace:

Du plus profond de mon âme, je remercie **Allah** pour tout et je suis heureuse d'être arrivée ici.

Je dédie ce travail à :

Mes parents, mon père **Youcef**, ma mère **Nassima Beghoura** qui m'ont comblé de bonheur par leur affection. Que Dieu leur préserve une longue vie et une bonne santé. Je vous adore !

Mes frères **Haroun, Brahim et Yahia**, vous êtes le soutien que chaque fille souhaite recevoir de la part de ses parents. Avec vous je peux conquérir le monde !

Ma soeur **Amina** et son mari **Abderrezak**, tu as été mon pilier, mon alliée et ma confidente. Tu m'as toujours encouragée à poursuivre mes rêves et à persévérer face aux obstacles.

Mon neveu **Yanis**, tu es une source de joie, tu es mon trésor et le plus beau des cadeaux.

A tous les membres de ma famille surtout **Chahinaz**.

A mes trinômes **Imane** et **Boutheyna** et à mes amies **Chaima, Ghada B, Abir** et **Ghada Z**.

Je vous remercie pour votre soutien depuis le début de ce travail. Vous étiez plus qu'une famille. On a partagé énormément de bons moments, dont je me souviendrai pour le reste de ma vie. Je suis très reconnaissante pour votre aide. Je suis chanceuse d'avoir des amis comme vous. Vous me manquerez !

A tous qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Dounia

Dédicace :

A mes plus grands soutiens et sources d'inspiration, je dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance infinis.

A ma mère qui a toujours été mon port d'attachement et ma boussole, merci pour ton amour inconditionnel, ton dévouement et ton soutien inébranlable. Tu as été la lumière qui à éclairé mon chemin dans les moments sombres et tu as toujours cru en moi, même lorsque je doutais.

A mon père qui m'a appris l'importance du travail acharné, de la persévérance et de l'honnêteté, je suis reconnaissante pour tes conseils avisés et ton soutien sans faille. Tu m'a inspiré à viser plus haut et à poursuivre mes rêves. Je te suis infiniment reconnaissante pour ton soutien indéfectible, ta confiance en moi et ton amour.

A mes frères et mes sœurs que ce travail soit pour vous un exemple à suivre et vous incite à mieux faire, merci pour votre soutien constant, votre humour contagieux et votre présence réconfortante .

A mes nièces et neveux **Yakin, Soltana Sojoud, Maroua** et **Saif El Islam** qui ont rempli ma vie de tant de bonheur et de joie.

A mes très chères amies **Maroua , Nessrine, Amira, Hadjer ,Chahinez** qui ont été mes piliers dans les moments difficiles et mes partenaires de fêtes dans les moments de joie , merci pour votre amitié sincère, votre soutien sans faille et votre amour inconditionnel.

Enfin, à mes trinômes **Imane** et **Dounia** qui ont participé avec moi dans la réalisation de ce travail, merci pour votre collaboration fructueuse et votre amitié, Je vous souhaite à tous les deux plus de succès dans votre vie future.

Au -delà des noms cités, il existe un cercle précieux de personnes qui ont joué un rôle significatif dans mon parcours, je vous exprime ma reconnaissance pour votre présence et votre soutien qui ont remarqué positivement ma vie.

Boutheyne

Remerciement :

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, le Généreux, qui a enseigné à l'Homme ce qu'il ne savait pas et aussi de nous avoir donné la force et la patience, afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre encadrant, Mme **CHENOUF Nadia Safia** qui a dirigé ce travail, ça ne sera jamais suffisant pour lui exprimer notre gratitude et notre grande reconnaissance pour la confiance qu'il nous a réservé, pour faire avancer ce travail, pour sa patience, sa gentillesse, et son esprit scientifique, critique et rigoureux.

Votre calme, respect, humanité et gentillesse envers nous sont gravés dans nos cœurs.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à Dr **Messaï Chafik Reda** pour son aide et sa patience, gentillesse, pour ces conseils et ces orientations durant toute la période de la pratique pour ce mémoire.

À notre président de jury Mme **ABED Hanene**, qui nous a fait le grand honneur, de présider le jury de ce mémoire. Qu'elle trouve ici, le témoignage de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.

Nous tenons à remercier Mme **SOUAGUI Yasmina**, pour avoir accepté d'examiner notre modeste travail de recherche et de siéger au jury de soutenance.

Nous tenons à remercier tous nos enseignants, du primaire jusqu'à l'ingénierie.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire de microbiologie, relevant de la faculté SNV STU , surtout **Wahiba** et **Wassima** .

Enfin, nous remercions tous ce qui nous aides, tous qui a nous donné la main d'assistance pour finir ce travail.

Table des matières :

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste d'abréviations.....	III
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
1. Les entérobactéries.....	3
1.1. Définition	3
1.2. Niche écologique	3
1.3. Caractères morphologiques et biochimiques des entérobactéries	3
1.4. Caractères cultureux	4
2. Les antibiotiques	4
2.1. Définition	4
2.2. Classes des antibiotiques et leurs modes d'action.....	5
3. Les β -lactamines	5
3.1. Définition et structure	5
3.2. Classification des β -lactamines	6
3.2.1. Les pénicillines (pénames)	6
3.2.2. Les céphalosporines (céphèmes).....	6
3.2.3. Les monobactames	6
3.2.4. Les carbapénèmes (pénèmes)	7
3.2.5. Les inhibiteurs des β -lactamines	7
3.3. Mode d'action des β -lactamines.....	7
4. Résistance bactérienne aux antibiotiques	8
4.1. Définition	8
4.2. Origine de la résistance	8
4.2.1. Résistance naturelle.....	8
4.2.2. Résistance acquise.....	8
4.3. Mécanismes de résistance aux β -lactamines	9
5. Les β -lactamases	9
5.1. Définition des β -lactamases	9
5.2. Classes des β -lactamases.....	9
6. Les β -lactamase à spectre étendue (BLSE)	10
6.1. Définition des BLSE.....	10

6.2. Types de β -lactamases à spectre étendue (BLSE).....	10
-----------------------------------------------------------------	----

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Contexte et lieu de l'étude.....	11
2. Echantillonnage	11
2.1. Échantillonnage du foie de poulet	11
2.2. Echantillonnage des eaux usées	12
2.2.1. Station d'épuration de BBA.....	12
2.2.2. Station d'épuration d'Aïn zada	13
2.3. Échantillonnage de monnaie	13
3. Analyses bactériologiques	14
3.1. Enrichissement	14
3.1.1. Foie de poulet.....	14
3.1.2. Eaux usées	14
3.1.3. Pièces et billets de monnaie	15
3.2. Isolement.....	15
3.3. Purification.....	16
3.4. Antibiogramme.....	16
3.4.1. Principe.....	17
3.4.2. Préparation de l'inoculum	17
3.4.3. Ensemencement des boîtes MH	17
3.4.4. Application des disques d'antibiotiques	18
3.4.5. Détection des BLSE (test de synergie).....	19
3.4.6. Incubation et lecture	19
3.5. Identification des entérobactéries :	20
3.5.1. Principe.....	20
3.5.2. Préparation de la galerie et l'inoculum.....	20
3.5.3. Inoculation de la galerie	20
3.5.4. Lecture de la galerie	21
3.6. Conservation des souches bactériennes.....	21

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Prévalence des entérobactéries résistantes à la Céfotaxime (CTXR)	22
2. Prévalence des entérobactéries productrices de BLSE	23
3. Prévalence des entérobactéries résistantes à l'Imipénème (IMPR)	23
4. Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées	24
4.1. Antibiorésistance des souches isolées du foie de poulet.....	24
4.2. Antibiorésistance des souches isolées des eaux usées	25
4.3. Antibiorésistance des souches isolées de la monnaie	26
5. Identification des souches d'entérobactéries isolées par galerie API 20E	26
5.1. Identification des souches BLSE isolées	27
5.2. Identification des souches IMPR isolées	27
6. Phénotypes de résistance des souches BLSE isolées	27
7. Discussion :.....	29
Conclusion	32

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau I : Liste des antibiotiques testés dans l'antibiogramme.....	17
Tableau II : Application des disques d'antibiotiques par boîte de Pétri.....	18
Tableau III : Répartition des souches BLSE selon leur origine.	23
Tableau IV : Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées du foie de poulet	24
Tableau V : Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées des eaux usées.	25
Tableau VI : Répartition des souches BLSE selon l'espèce	27
Tableau VII : Répartition des souches IMP ^R selon l'espèce	27
Tableau VIII : Phénotypes de résistance et multi-résistance des souches BLSE isolées.....	28

Liste des figures

Figure 1 : Représentation catégorique des principaux genres d'entérobactéries associés à divers écosystèmes.....	3
Figure 2 : Cibles des famille des antibiotiques.....	5
Figure 3 : Structure chimique des différentes classes des β -lactamines	5
Figure 4 : Structure moléculaire des inhibiteurs de β -lactamases	7
Figure 5 : Classification des bêta lactamases chez les entérobactéries.....	9
Figure 6 : Prélèvements de foie de poulet	11
Figure 7 : Echantillonnage des eaux usées.....	12
Figure 8 : Étapes d'épuration des eaux usées dans la station de BBA (Avant, durant et après l'épuration)	13
Figure 9 : Station d'épuration d'Aïn Zada	13
Figure 10 : Échantillonnage de pièces et billets de monnaie	14
Figure 11 : Enrichissement des échantillons de foie de poulet	14
Figure 12 : Enrichissement des eaux usées	15
Figure 13 : Enrichissement par écouvillonnage des échantillons de monnaie	15
Figure 14 : Isolement des différentes souches sur le milieu MacConkey et Hektoen	15
Figure 15 : Purification d'une culture mixte	16
Figure 16 : Aspect macroscopique de souches pures	16
Figure 17 : Technique d'écouvillonnage.....	18
Figure 18 : Application des disques des antibiotiques.....	18
Figure 19 : Tests de synergie positifs chez 2 souches bactériennes différentes.....	19
Figure 20 : Mesure des diamètres d'inhibition.....	19
Figure 21 : Inoculation de la galerie API20E.....	21
Figure 22 : Conservation des souches dans le milieu GN incliné.	21
Figure 23 : Prévalence des échantillons contaminés par les entérobactéries CTX ^R	22
Figure 24 : Prévalence des échantillons contaminés par les entérobactéries CTX ^R selon le type d'échantillons.....	22
Figure 25 : Prévalence totale des souches BLSE	23
Figure 26 : Prévalence des souches IMP ^R	23
Figure 27 : Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées du foie de poulet	24
Figure 28 : Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées des eaux usées	25
Figure 29 : Identification des souches par galerie API 20E.....	26

Liste d'abréviations

ADH : Arginine dihydrolase.

AK : Amikacine.

AMC : Amoxicilline/ Acide clavulanique.

ANBT : Agence Nationale des Barrages et Transferts.

API20E : Analytical Profile Index (20 tests d'identification des entérobactéries).

BBA : Bordj Bou Arreridj.

BLSE : β -lactamases à spectre étendu.

BMR : Bactéries multi résistantes.

BN : Bouillon nutritif.

C : Chloramphénicol.

C3G : Céphalosporines de troisième génération.

C4G : Céphalosporines de quatrième génération.

CAZ : Céfotazidime.

CIP : Ciprofloxacine.

CIT : Utilisation du citrate.

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CN : Gentamicin.

COT : Co-trimoxazole.

CTX : Céfotaxime.

CTX-M : Céfotaximase-Munich.

CTX^R : Souches résistantes à la Céfotaxime.

EBLSE : Entérobactéries productrice des β -lactamases à spectre étendu.

FEP : Céfépime.

GEL : Gélatine.

GES : Guiana extended Spectrum.

GN : gélose nutritive.

GNB : Bactéries à gram négatives.

H2S : sulfure d'hydrogène.

I : intermédiaire

IMP : Imipenème.

IMP^R : Souches résistantes à l'imipénème.
IND : Indole.
LDC : Lysine décarboxylase.
MH : Mueller Hinton.
ODC : Ornithine décarboxylase.
ONA : office national de l'assainissement.
ONPG : O-nitrophényl bêta-D-galactopyranoside.
PER : *Pseudomonas* extended resistant.
PLPs : Penicillin binding proteins.
R : résistante
S : sensible
SHV- 1 : Sulfhydryl variable.
TDA : Tryptophane désaminase.
TE : Tétracycline.
TEM : Temoneira - nom du patient.
VEB : Vietnam extended spectrum β -lactamase.
VP : Test de Voges-Proskauer.

Introduction

L'ère des antibiotiques a commencé avec la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming à Londres, par le champignon *Penicillium notatum* qui a inhibé la croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* (Helfand, 1982). Depuis l'introduction de la pénicilline dans les années 1940, de nombreux agents antibactériens ont été développés et commercialisés à des fins thérapeutiques, réduisant fortement la morbidité et la mortalité humaines associées aux infections bactériennes observées avant "l'âge des antibiotiques". Cependant, le phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques était assez prévisible, et dès 1945, Fleming, lors de la cérémonie du prix Nobel, évoquait les dangers d'une mauvaise utilisation, comme le sous-dosage de la pénicilline et les effets in vitro de telles pratiques et alertait la communauté scientifique sur ses effets in vivo (Muylaert et Mainil, 2012).

Malheureusement, la résistance bactérienne aux antibiotiques anciens est devenue rapidement un problème de santé mondial majeur. La résistance aux pénicillines est apparue dans les années 1950, la résistance aux céphalosporines de première génération dans les années 1970 et la résistance aux céphalosporines de troisième génération dans les années 1990 (Carle, 2009).

L'Algérie est un pays d'Afrique du Nord qui présente une situation préoccupante en matière de résistance aux antibiotiques. En effet, la dernière décennie a vu une augmentation significative de la résistance aux antibiotiques, en particulier chez les bactéries Gram-négatives (Baba Ahmed-Kazi et Arlette, 2014).

Selon Loucif et al. (2018), les β -lactamines sont parmi les agents les plus efficaces et les plus largement utilisés pour traiter les infections bactériennes en médecine humaine et vétérinaire. Au cours de la dernière décennie, la résistance des bactéries Gram-négatives (GNB) aux β -lactamines était principalement due à la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE).

L'une des principales familles des bacilles à Gram négatif sont les entérobactéries qui sont responsables d'infections humaines graves. Les espèces de cette famille ont été exposées à une utilisation intensive d'antibiotiques pendant environ 20 ans. La résistance des entérobactéries est un problème critique qui nécessite une attention urgente, en particulier compte tenu de l'émergence des β -lactamases à spectre étendu (Paterson, 2006).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude qui se fixe pour objectif l'étude de la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE dans des échantillons prélevés à Bordj

Bou Arreridj (BBA) et provenant de trois origines : foie de poulet commercialisé, monnaie fiduciaire algérienne (pièces et billets) et eaux usées.

Pour ce faire, ce travail est divisé en trois parties : En premier lieu, nous présentons une synthèse bibliographique qui commence avec des généralités sur les entérobactéries puis les antibiotiques notamment la famille de β -lactamine et les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques. En deuxième partie, une étude in vitro est réalisée afin de connaître la présence de bactéries productrices de BLSE dans les différents échantillons. Les résultats sont finalement présentés et discutés dans la troisième partie.

Chapitre 1

1. Les entérobactéries

1.1. Définition

Les entérobactéries constituent une famille hétérogène de bacilles à Gram-négatif qui est fréquemment impliquée dans les infections humaines. Elle se compose d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces (Souana *et al.*, 2011). Les germes de cette famille sont en majorité pathogènes (anormaux) du tube digestif humain provoquent des infections du système nerveux central, des voies respiratoires inférieures, de la circulation sanguine, des voies gastro-intestinales et urinaires, mais sont également des colonisateurs courants du tractus gastro-intestinal (GIT), et d'autres sont des colonisateurs normaux de ce tube digestif (*Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp.), bien qu'ils soient également présents dans l'environnement (Brolund, 2014).

1.2. Niche écologique

De nombreux genres ayant une position taxonomique actuelle étaient représentés au sein du genre "*Enterobacter*" lorsque la famille a été proposée pour la première fois, y compris *Escherichia*, *Klebsiella*, *Shigella* et *Proteus* (Janda et Abbott, 2021). Les entérobactéries sont réparties dans différents écosystèmes selon la figure suivante :

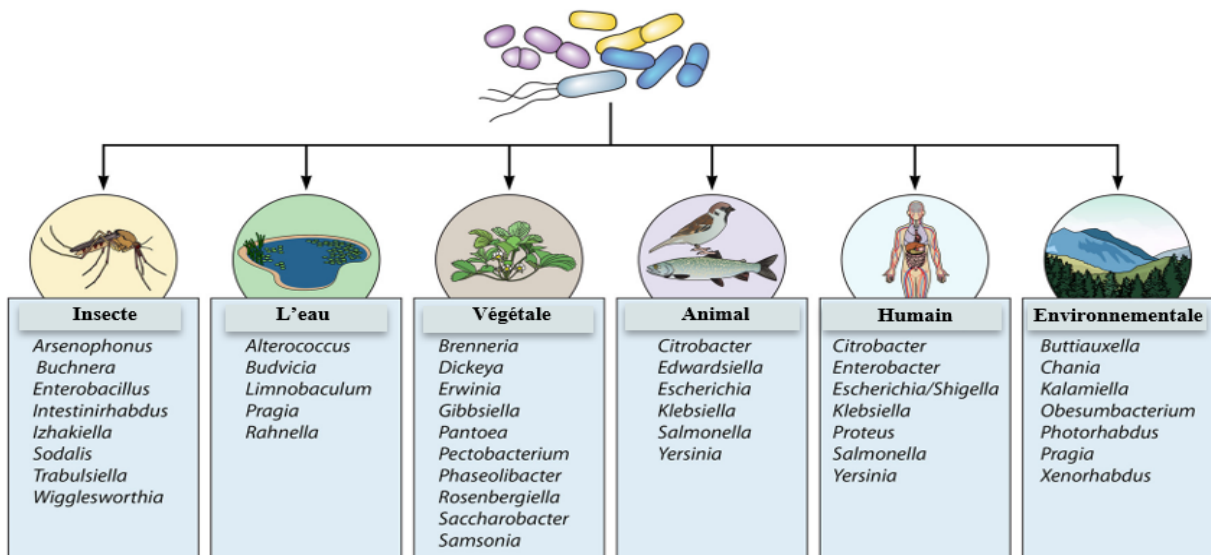


Figure 1 : Représentation catégorique des principaux genres d'entérobactéries associés à divers écosystèmes (Janda et Abbott, 2021)

1.3. Caractères morphologiques et biochimiques des entérobactéries

Cette famille comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

- Bacilles à Gram négatif ;

- Leur taille entre 2-3 μ de long sur 0,6 μ de large ;
- Polymorphes généralement ;
- Immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche ;
- Aéro-anaérobies facultatifs ;
- Fermentant le glucose avec la production de gaz ;
- Ne possédant pas d'oxydase ;
- Possédant une catalase à l'exception de *Shigella dysenteriae* ;
- Réduisant les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi *Erwinia*) ;
- Non sporulées ;
- La présence d'une capsule visible au microscope ;
- Les espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion (**Bossert et Young, 1986**).

1.4. Caractères cultureux

Les entérobactéries se développent facilement dans un milieu normal en 24 heures à 37°C pour les conditions aérobies et anaérobies. Leurs besoins nutritionnels sont généralement réduits et la plupart poussent sur des milieux synthétiques contenant des sources simples de carbone comme le glucose (**Bakhoun, 2004**).

En milieu gélosé, les colonies d'entérobactéries sont généralement lisses, brillantes et de structure uniforme ("smooth" ou en forme de S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough » ou R). Les bactéries du genre *Klebsiella* forment souvent de grandes colonies très visqueuses et brillantes. Les espèces de *Proteus* ont tendance à pénétrer dans la gélose et à y former des tapis uniformes. En milieu liquide, les entérobactéries provoquent une turbidité uniforme du bouillon (**Bakhoun, 2004**).

2. Les antibiotiques

2.1. Définition

L'adjectif antibiotique (du grec *anti* : contre, *biotikos* : concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée naturellement par un organisme pour en détruire un autre, se précisera plus tard, comme une substance chimique produite par un microorganisme et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance voir même de détruire d'autres microorganismes (**Muylaert et Mainil, 2012**). Ces substances sont des molécules issues du métabolisme secondaire qui ont

été particulièrement étudiées du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire (Coates et Hu, 2007). Elles peuvent être produites de manière naturelle par des champignons et des bactéries (telles que la pénicilline) ou obtenues par synthèse (telles que les sulfamides et les quinolones) et semi synthèse (telles que l'amoxicilline et l'amikacine) (Guardabassi et Courvalin, 2006).

2.2. Classes des antibiotiques et leurs modes d'action

Les antibiotiques sont communément classés en familles en fonction de leurs structures chimiques. Une famille renferme toutes les molécules ayant une structure chimique similaire et partageant le même mode d'action antimicrobien. Les principaux modes d'action des antibiotiques sont résumés dans la figure 2. Dans ce chapitre, nous nous contentons de la description des antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines.

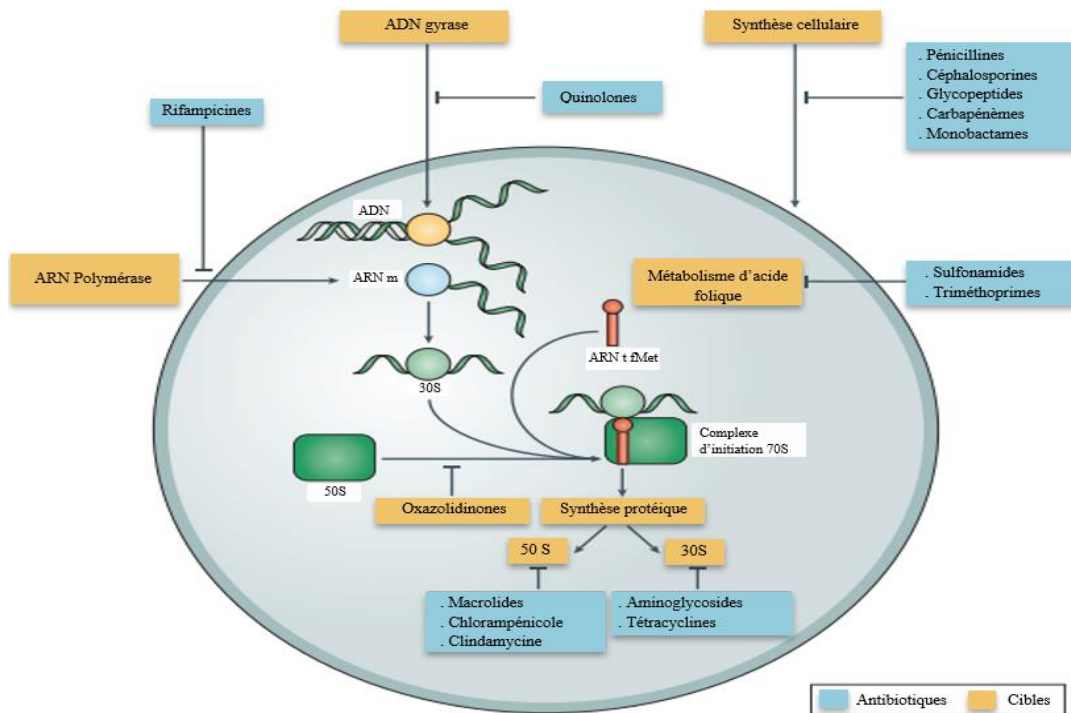


Figure 2 : Cibles des famille des antibiotiques (Coates *et al.*, 2002)

3. Les β -lactamines

3.1. Définition et structure

Ce sont des antibiotiques ayant un effet bactéricide et ont en commun une structure appelée l'anneau β -lactame, formée de trois atomes de carbone et un atome d'azote (Vander *et al.*, 2004). Il peut être substitué par acylation sur la fonction aminée pour donner naissance à des dérivés qui se différencient par leur stabilité, leur pharmacocinétique et leur spectre d'activité (Fisher *et al.*, 2005).

3.2. Classification des β -lactamines

Elles comprennent différentes classes, dont les principales utilisées en thérapeutique humaine sont brièvement présentées ci-après.

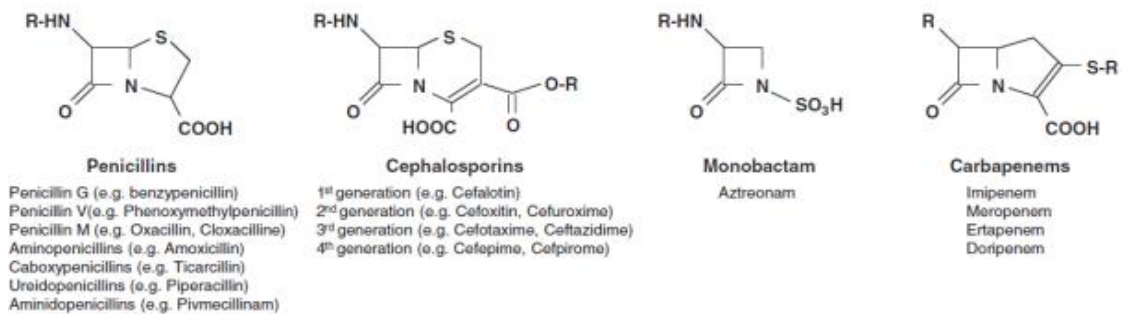


Figure 3 : Structure chimique des différentes classes des β -lactamines (Nordmann *et al.*, 2012)

3.2.1. Les pénicillines (pénames)

Il s'agit de l'un des plus anciens groupes d'antibiotiques encore largement utilisés en pratique clinique. Ils sont bactéricides et très efficaces contre les organismes sensibles (Chow *et al.*, 2005), les pénicillines partagent une structure de base commune, l'acide 6-aminopénicillanique, qui consiste en un cycle thiazolidine et un cycle β -lactame portant un groupe amine en position C-6 (Grøndahl et Langmoen, 1993).

3.2.2. Les céphalosporines (céphèmes)

La différence structurelle entre les pénicillines et les céphalosporines est que les céphalosporines contiennent un cycle β -lactame fusionné à un cycle thiazolidine à 6 membres qui est le 7-amino-céphalosporanique produite par *Cephalosporium acremonium*, à partir duquel les nouvelles céphalosporines ont été obtenues par hémisynthèse (Cattoir, 2010). Ces β -lactamines sont toutes à large spectre et ayant une capacité d'hydrolyse plus marquée vis-à-vis les autres et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif (Nordmann *et al.*, 2010).

3.2.3. Les monobactames

Ce sont des β -lactamines monocycliques, initialement obtenues à partir de bactéries. Elles sont produites par synthèse chimique et ont un spectre étroit limité à certains bacilles Gram négatif. La seule molécule utilisée à l'heure actuelle est l'aztreonam (ATM). Cette molécule est résistante à l'hydrolyse des pénicillinases et carbapénémases et sensible à celle des céphalosporinases à haut niveau et des BLSE (Ruppé, 2010).

3.2.4. Les carbapénèmes (pénèmes)

Les carbapénèmes, dont le cycle de base diffère de celui des pénicillines par la présence d'une double liaison et d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1, sont des dérivés de la thiénamycine. Ces molécules exercent un effet bactéricide temps dépendant et ont un spectre très large et sont très stables à l'hydrolyse de la plupart des β -lactamases (Cattoir *et al.*, 2010). Ce sont des molécules utilisées en dernier recours contre des bactéries multi-résistantes ou alors en traitement probabiliste large.

3.2.5. Les inhibiteurs des β -lactamines

Le développement d'associations combinant une pénicilline à un inhibiteur de β -lactamases (IBL) a également contribué à gagner du temps face à l'émergence de nouvelles résistances. En effet, ces IBL ont une activité anti-bactérienne intrinsèque, ils permettent de préserver l'activité de la pénicilline qui leur est associée en présence de β -lactamase (Nordmann *et al.*, 2012).

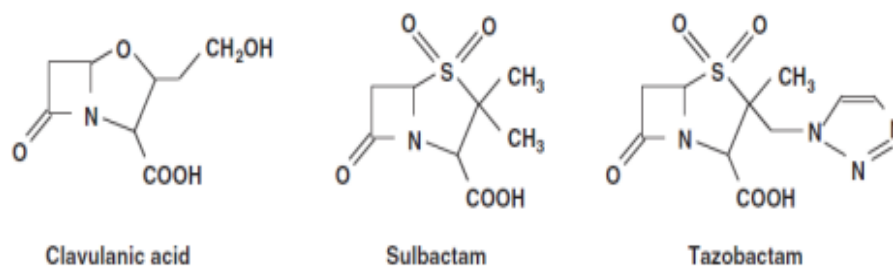


Figure 4 : Structure moléculaire des inhibiteurs de β -lactamases (Nordmann *et al.*, 2012)

3.3. Mode d'action des β -lactamines

Toutes les β -lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane, qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif (Cavallo *et al.*, 2004), notamment sur les entérobactéries comme suit:

- Les β -lactamines sont des molécules cycliques qui interfèrent avec les étapes finales de la synthèse du peptidoglycane ;
- Elles présentent une analogie structurale entre le noyau β -lactame et le dipeptide terminal D-alanine-D-alanine du penta-peptide constitutif du peptidoglycane ;

- Leur reconnaissance par les transpeptidases et les carboxypeptidases (PLP les penicillin binding proteins) aboutit à la fixation du cycle β -lactame sur le site actif de ces enzymes cibles, qui comporte en général une sérine ;
- Cette fixation entraîne une ouverture du cycle β -lactame par rupture de la liaison amide et une acylation du site actif sérine avec formation d'un complexe penicilloyl-enzyme covalent qui aboutit à l'inactivation du site actif de l'enzyme provoquant une inhibition de la synthèse du peptidoglycane et l'arrêt de la croissance bactérienne ;
- La fixation est irréversible et l'antibiotique se comporte comme un substrat suicide.

4. Résistance bactérienne aux antibiotiques

4.1. Définition

Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées, et selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place.

4.2. Origine de la résistance

4.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle est due à la présence de gènes chromosomiques communs à toutes les bactéries d'une même espèce et transmises à la descendance. La résistance naturelle détermine les phénotypes « Sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis les antibiotiques (**Baba Ahmed-Kazi et Arlet, 2014**).

4.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise ne concerne qu'une fraction des souches. Elle nécessite un événement génétique (mutation ou acquisition d'éléments génétiques mobiles notamment les plasmides), et son niveau augmente à partir de l'utilisation de l'antibiotique (pression d'antibiotique). Ainsi l'antibiotique ne crée pas la résistance à l'échelle de la population bactérienne, il ne fait que sélectionner un mécanisme de résistance soit une résistance chromosomique, soit une résistance plasmidique extra-chromosomique (**Vora et Auckenthaler, 2009**).

4.3. Mécanismes de résistance aux β -lactamines

Il existe quatre mécanismes connus de résistance aux β -lactamines observées chez les bactéries (**Michel-Briand, 2007**), ceux-ci sont :

- Inactivation enzymatique des antibiotiques par production des β -lactamases ;
- Production des nouvelles protéines liant les pénicillines (PLPs) modifiées ayant une affinité différente aux β -lactamines ;
- Diminution de la perméabilité de l'antibiotique à travers l'enveloppe cellulaire en raison de l'altération des canaux de porine ;
- Activation des pompes à efflux qui rejettent l'antibiotique hors de la cellule.

5. Les β -lactamases

5.1. Définition des β -lactamases

La production de β -lactamases est le mécanisme le plus courant de résistance bactérienne aux β -lactamines. Ces enzymes catalysent l'hydrolyse de l'anneau β -lactame en menant à la perte d'un groupement carboxyle pour créer inefficace antimicrobiens (**Medeiros, 1984**).

Ces enzymes, dont le support génétique peut être chromosomique ou plasmidique, sont retrouvées chez de nombreuses bactéries (Gram positif : sécrétées dans le milieu de culture, et Gram négatif se retrouvent dans l'espace périplasmique). Il s'agit de protéines de structure (poids moléculaire, composition en acides aminés, point isoélectrique, structure du site actif) et de propriétés catalytiques (spectre d'activité sur les différentes β -lactamines hydrolysées, sensibilité ou résistance aux inhibiteurs) très diverses (**Medeiros, 1984**).

5.2. Classes des β -lactamases

En 1980, Ambler a divisé les β -lactamases en quatre classes en fonction de leur similarité de séquences. Les classes A, C et D fonctionnent par le mécanisme d'hydrolyse des esters de sérine, tandis que les β -lactamases de classe B, également appelées métallo β -lactamases, ont un ion zinc participant à la catalyse (**Tooke et al., 2019**).

Le système de classification d'Ambler, basé sur l'homologie des acides aminés, est la méthode la plus couramment utilisée pour classer les β -lactamases. Ce sont la principale cause de résistance bactérienne aux β -lactamines. Le système de classification d'Ambler est considéré comme le schéma suivant :

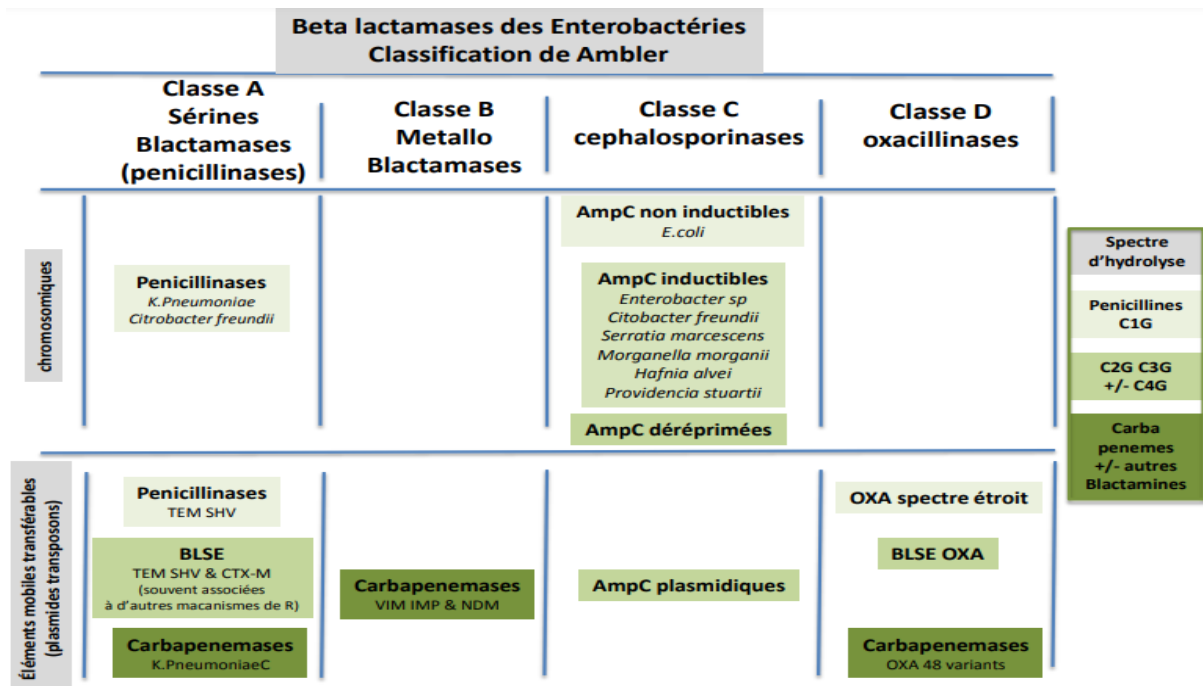


Figure 5 : Classification des bêta lactamases chez les entérobactéries (Ruppé *et al.*, 2015)

6. Les β -lactamase à spectre étendue (BLSE)

6.1. Définition des BLSE

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes à large spectre d'action produites par les entérobactéries, dites multi-résistantes, qui hydrolysent toutes les pénicillines et céphalosporines à l'exception des céphamycines (céfoxitine, céfotétan), des moxalactames et des carbapénèmes. Elles sont partiellement inhibées par des inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam) et portées par des plasmides conjugatifs (Mariani *et al.*, 2012). L'image de synergie entre C3/4G ou aztréonam et acide clavulanique dans l'antibiogramme est la preuve que la souche secrète une BLSE. La détection de BLSE chez *Proteus* peut être difficile car elles produisent moins de ces enzymes (Sirot, 1996).

6.2. Types de β -lactamases à spectre étendue (BLSE)

Les premières BLSE dérivent des pénicillinases de type TEM ou SHV- 1 par mutation ponctuelle. Plus récemment, de nouvelles BLSE non dérivées des pénicillinases ont émergé : les céfotaximases de type CTX- M et les céftazidimases de type PER, GES et VEB (Mariani *et al.*, 2012).

Chapitre II

Matériel & Méthodes

1. Contexte et lieu de l'étude

L'objectif de cette étude est de déterminer la prévalence et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées à partir de prélèvements alimentaires (foie de poulet commercialisé), et des prélèvements environnementaux : monnaie fiduciaire (pièces métalliques et billets) et des eaux usées, collectés dans la région de BBA.

L'étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Mohamed EL-Bachir El-Ibrahimi de BBA, pendant une période de 2 mois, du 09 Mars au 11 Mai 2023.

2. Echantillonnage

L'étude a été menée sur un total de 39 échantillons répartis inégalement entre trois types de prélèvement.

2.1. Échantillonnage du foie de poulet

Au total, 15 échantillons de foie de poulet provenant de 15 boucheries (1 échantillon par boucherie) ont été prélevés dans différentes communes de la wilaya de BBA, à savoir: Ras El Oued, Bordj Bou Arréridj, Sidi Embarek et Hasnawa. Les échantillons ont été conservés dans des pots stériles et transportés dans des glacières sous régime de froid (+4 C°) au laboratoire, pour être analysés le même jour (figure 6).

Les informations détaillées de l'origine de nos échantillons de foie (la date, le lieu de prélèvement et d'éviscération) sont citées en annexe 1.



Figure 6 : Prélèvements de foie de poulet

2.2. Echantillonnage des eaux usées

Après soumission d'une demande manuscrite auprès de l'office national d'assainissement (ONA) de la zone de Sétif, unité de BBA, un avis favorable nous a été accordé.

Selon son site officiel, l'ONA un établissement public national à caractère industriel et commercial créé par décret exécutif n° : 01-102 du 21 Avril 2001. Il assure des services d'assainissement dans les limites de ses zones et directions d'assainissement, permettant à ces dernières, grâce à des réseaux d'assainissement, de diriger les estuaires d'eaux utilisées.

Dans notre étude, 9 échantillons d'eaux usées ont été collectés de deux stations d'épurations, à trois niveaux (figure 7) :

- Station d'épuration de la ville de BBA (6 échantillons) ;
- Station d'épuration d'Aïn Zada (3 échantillons).



Figure 7 : Echantillonnage des eaux usées

2.2.1. Station d'épuration de BBA

La station d'épuration de BBA est située dans la partie sud de la ville et a été mise en service en mai 2002. L'entreprise est spécialisée dans le traitement des eaux domestiques et pluviales de la ville de BBA par un procédé de traitement à boues activées à faible charge (figure 8). L'eau purifiée de la station est rejetée à Oued Ksob, qui est situé à environ 200m de la station qui alimente en eau le barrage Ksob de la wilaya de M'sila, et sert à irriguer les terres du sol en aval. L'eau purifiée est recyclée pour l'agriculture et les boues d'épuration sont utilisées comme engrais.



Figure 8 : Étapes d'épuration des eaux usées dans la station de BBA (Avant, durant et après l'épuration)

2.2.2. Station d'épuration d'Aïn zada

Selon l'agence nationale des barrages et transferts (ANBT), la station d'épuration d'Aïn Zada (figure 9) est une station de traitement des eaux usées, qui sont destinées au barrage comme des eaux épurées valables à l'utilisation quotidienne (non potables) des villes voisines : Bordj Bou Arreridj (à partir d'avril 2013), Bougaa, El-Eulma et Sétif.



Figure 9 : Station d'épuration d'Aïn Zada

2.3. Échantillonnage de monnaie

Un total de 15 prélèvements de monnaie (pièces métalliques et billets) actuellement en circulation ont été prélevés à partir de différents endroits de commerce où l'action d'échange de monnaie est élevée : épicerie, supermarché, boulangerie, laiterie, cafétéria, fruiterie, boucherie, poissonnerie, vendeur ambulant de maïs, vendeur ambulant de nougat, vendeur ambulant de légumes, vendeur ambulant de Cherbet, taxieur et receveur de bus, en demandant aux individus de les déposer eux-mêmes dans des pots stériles (figure 10). Les informations détaillées (date et lieu de prélèvement) sont données en annexe 2.

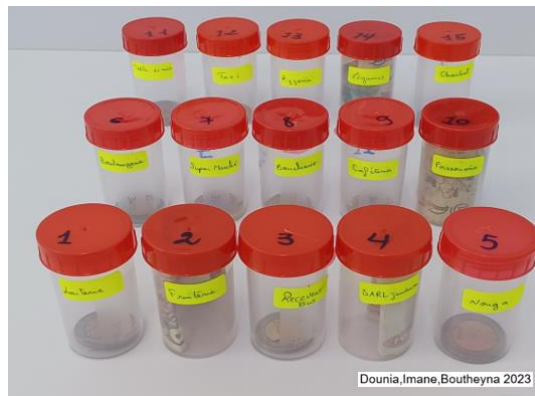


Figure 10 : Échantillonnage de pièces et billets de monnaie

3. Analyses bactériologiques

Le consommable, les appareils et les milieux de culture utilisés dans la réalisation de l'analyse bactériologique des échantillons sont mentionnés dans l'annexe 3.

3.1. Enrichissement

3.1.1. Foie de poulet

Dans une zone stérile, l'organe est flambé et coupé en petits dés à l'aide d'une pince et d'un ciseau. Le milieu d'enrichissement, un tube de bouillon nutritif (BN), est ensuite ensemencé par l'introduction de petits morceaux de foie, et incubé dans l'étuve pendant 24h à 37°C (figure 11), comme illustré par **Chenouf *et al.* (2021)**.

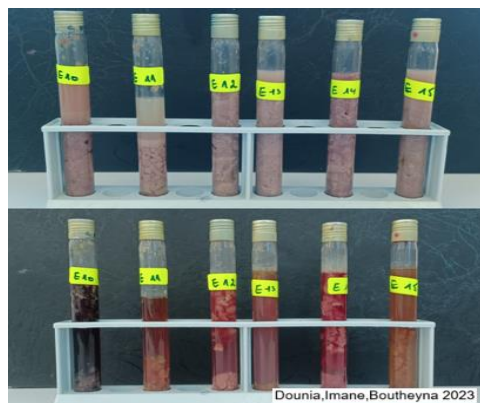


Figure 11 : Enrichissement des échantillons de foie de poulet

3.1.2. Eaux usées

En utilisant une micropipette, 1 ml d'échantillon d'eau usée est ajouté à des tubes contenant 10 ml de bouillon nutritif dans des conditions stériles (figure 12). Ensuite, tous les tubes sont placés dans l'étuve pour l'incubation à 37°C pendant 24h (**Hassen *et al.*, 2020**).

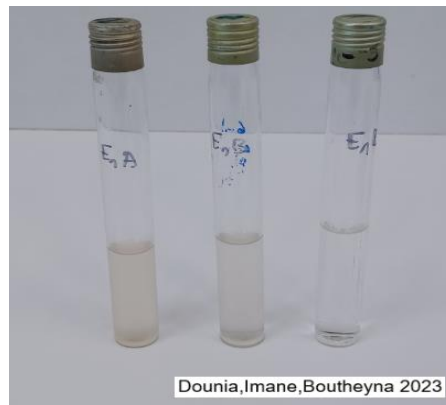


Figure 12 : Enrichissement des eaux usées

3.1.3. Pièces et billets de monnaie

Les échantillons de monnaie ont été écouvillonnés à l'aide d'un écouvillon stérile légèrement imbibé dans un BN (figure 13). L'écouvillon est ensuite trempé dans un tube contenant 10 ml de BN et incubé dans l'étuve pendant 24h à 37°C (**Bendjama *et al.*, 2020**).

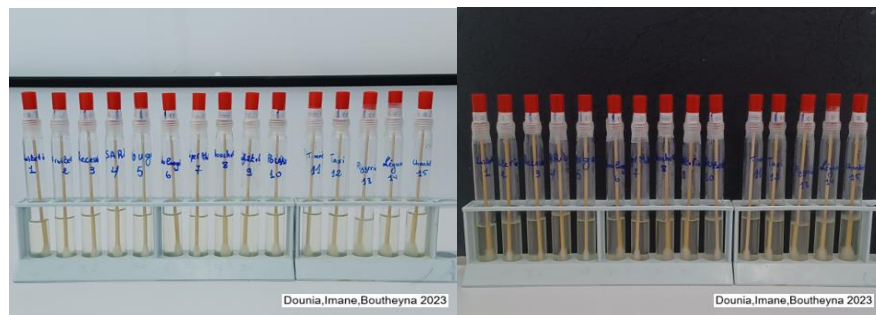


Figure 13 : Enrichissement par écouvillonnage des échantillons de monnaie

3.2. Isolement

Un volume de 100µl du bouillon enrichi, tous échantillons confondus, a été ensemencé par étalement sur milieux MacConkey ou Hektoen additionnés de céfotaxime (2 mg/l) (figure 14). L'incubation se fait pendant 18 à 24h à 37°C (**Carvalho *et al.*, 2021**).

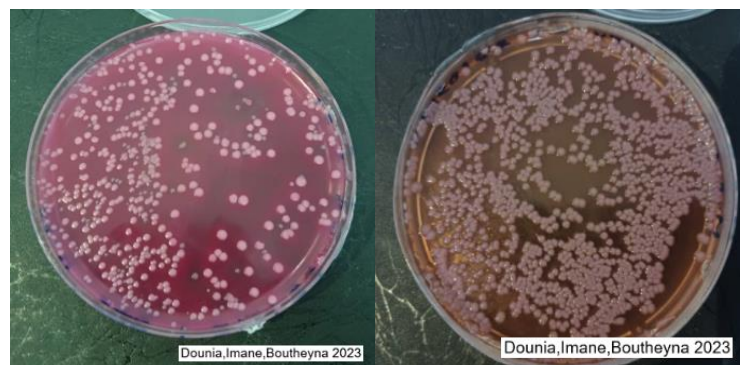


Figure 14 : Isolement des différentes souches sur le milieu MacConkey et Hektoen

3.3. Purification

Pour toute culture positive, chaque colonie présentant un aspect particulier est repiquée sur le même milieu d'isolement par la technique des quadrants à l'aide d'une anse de platine (figure 15). Les boîtes sont ensuite incubées pendant 24h à 37°C. Après l'incubation, une vérification est obligatoire pour voir si les colonies présentent le même aspect macroscopique que celui observé dans le premier isolement. Si nécessaire, le repiquage est poursuivi jusqu'à l'obtention d'une culture pure (figure 16).

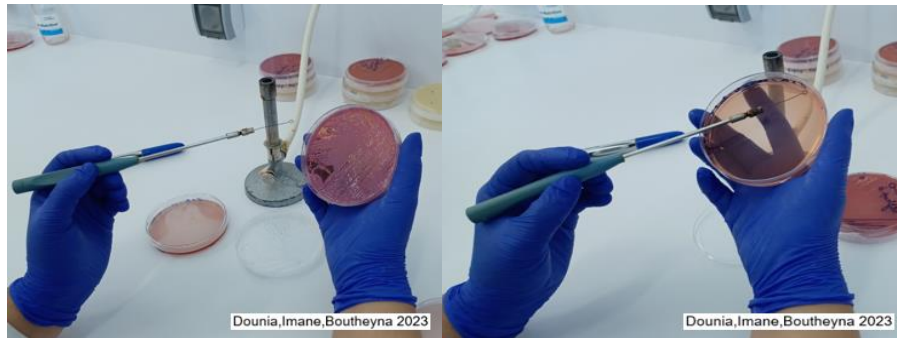


Figure 15 : Purification d'une culture mixte

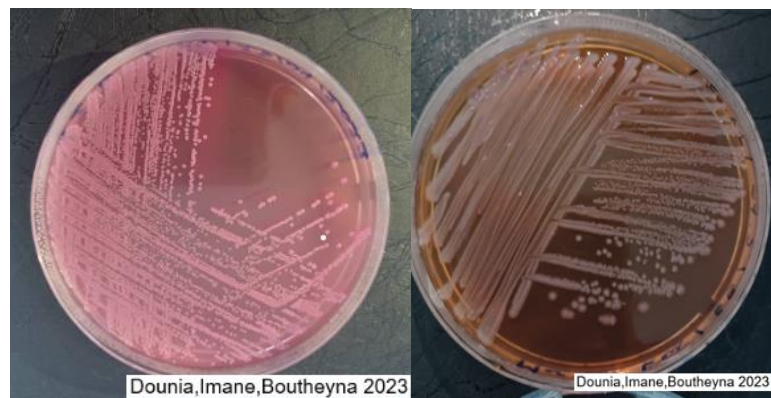


Figure 16 : Aspect macroscopique de souches pures

3.4. Antibiogramme

Les souches purifiées sont soumises à une identification des profils de résistance grâce à un antibiogramme standard par méthode de diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques en milieu gélose Muller Hinton (MH), selon les recommandations de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020). Les antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau I : Liste des antibiotiques testés dans l'antibiogramme.

Famille	Classe	Antibiotique (charge)	Abréviation	Marque
β-lactamines	Pénicilline + Inhibiteur de β-lactames	Amoxicilline + acide clavulanique (20/ 10μg)	AMC*	Himedia, Inde
	C3G	Céfotaxime (30 μg)	CTX*	Himedia, Inde
		Céftazidime (30 μg)	CAZ*	
	C4G	Céfépime (30 μg)	FEP*	Liofilchem, Italie
	Carbapénème	Imipenème (30 μg)	IMP	Himedia, Inde
Aminoglycosides	/	Amikacine (30 μg)	AK	Bioanalyse, France
	/	Gentamicine (30 μg)	CN	Oxoid, Angleterre
Sulfamides	/	Co-trimoxazole(25 μg)	COT/SXT	Himedia, Inde
Tétracyclines	/	Tétracycline (30 μg)	TE	Himedia, Inde
Quinolones	/	Ciprofloxacine (5 μg)	CIP	Himedia, Inde
Phénicolés	/	Chloramphénicol(30 μg)	C	Bioanalyse, France.

* : Antibiotiques utilisés pour la détection des BLSE

C3G : Céphalosporines de 3^{ème} génération, C4G : Céphalosporines de 4^{ème} génération

3.4.1. Principe

L'antibiogramme standard est une technique rapide basée sur l'observation de la croissance bactérienne dans un milieu de culture gélosé (MH) après application des disques d'antibiotiques. Le résultat du test est fondé sur la mesure des zones d'inhibition de croissance qui peuvent apparaître autour du disque. Ce test de diagnostic, *in vitro*, permet de classer les bactéries selon leur sensibilité aux antibiotiques.

3.4.2. Préparation de l'inoculum

Un inoculum de 0.5 MacFarland, ce qui correspond à un inoculum d'environ 1x10⁸ UFC/ml, est préparé en utilisant de l'eau physiologique et des colonies bien isolées et parfaitement identiques prélevées à l'aide d'une anse de platine à partir de cultures pures et jeunes (18h à 24h).

3.4.3. Ensemencement des boîtes MH

L'ensemencement est effectué dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum. Un écouvillon stérile et sec est trempé dans l'inoculum, puis légèrement déchargé en le pressant

sur la paroi interne du tube. Ensuite, l'inoculum est étalé en réalisant des stries très serrées sur toute la surface de la boîte de MH. L'opération est répétée trois fois avec rotation de 60° à chaque fois, sans oublier de retourner l'écouvillon sur lui-même (figure 17). A la fin de l'ensemencement, l'écouvillon est passé sur la périphérie de la gélose.



Figure 17 : Technique d'ensemencement

3.4.4. Application des disques d'antibiotiques

Chaque disque d'antibiotique est pris à l'aide d'une pince stérile et déposé sur la gélose (MH) ensemencée (figure 18). Une boîte peut contenir au maximum 6 disques d'antibiotiques comme il est représenté dans le tableau ci-dessous. Il est nécessaire que les disques ne soient pas déplacés après leur application.

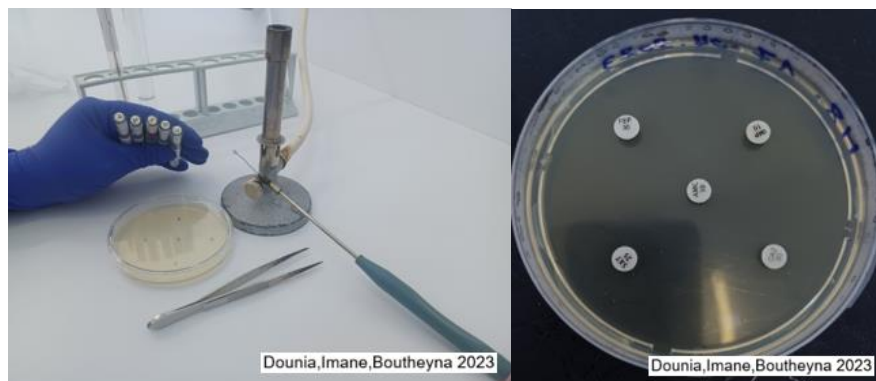


Figure 18 : Application des disques des antibiotiques.

Tableau II : Application des disques d'antibiotiques par boîte de Pétri.

Boîtes	Disques des antibiotiques					
1	AMC	CTX	CAZ	IMP	FEP	/
2	AK	COT	TE	CN	CIP	C

3.4.5. Détection des BLSE (test de synergie)

Le test de synergie est un test permettant de confirmer la présence de BLSE. Au moment d'application des disques et dans l'antibiogramme standard, le disque d'Amoxicilline + acide clavulanique est placé au centre entouré par les disques de céphalosporines de 3^{ème} et de 4^{ème} génération : Céfotaxime (CTX), Céfotaxime (CAZ) et Céfépime (FEP), en laissant une distance de 2.5 cm. La présence des BLSE donne donc une image caractéristique, en « bouchon de champagne », comme dans la figure suivante.

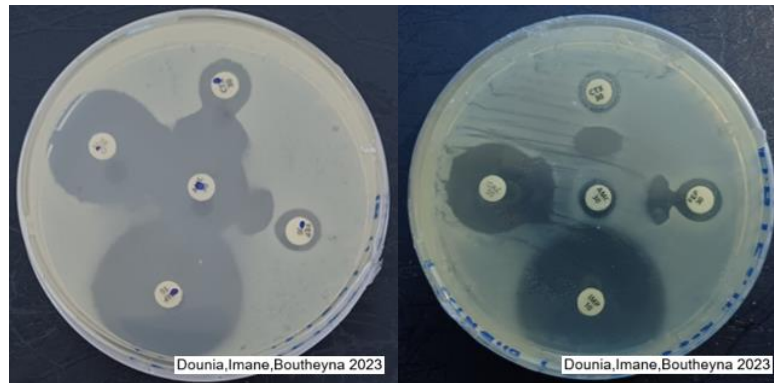


Figure 19 : Tests de synergie positifs chez 2 souches bactériennes différentes

3.4.6. Incubation et lecture

Après 18 à 24h d'incubation à 37°C, la zone d'inhibition de croissance bactérienne est mesurée à l'aide d'une règle à l'extérieur de la boîte fermée (figure 20). A la fin, les diamètres d'inhibitions mesurées sont comparés avec les valeurs critiques recommandées par CLSI (2020) (annexe 4). Les souches sont finalement classées en : sensibles (S), intermédiaires (I) ou résistantes (R).

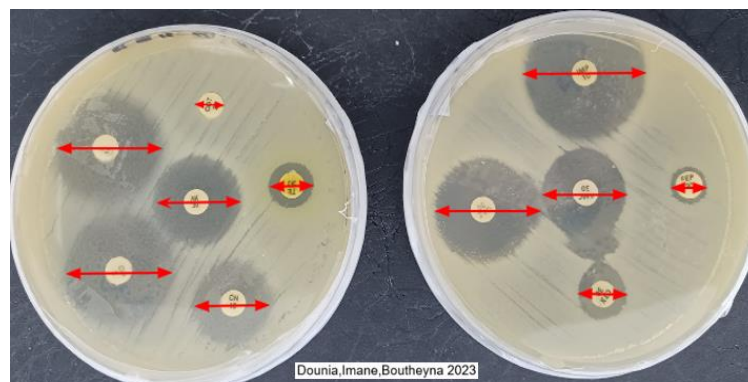


Figure 20 : Mesure des diamètres d'inhibition.

3.5. Identification des entérobactéries :

L'identification des souches BLSE a été faite par des galeries API 20^E

3.5.1. Principe

Les galeries Api 20E (Analytical Profile Index) sont des galeries de tests biochimiques miniaturisées et standardisées, exploitables via des bases de données d'identification complètes (20 caractères pour les entérobactéries), comporte 20 puits (microtubes) contenant des substrats sous forme déshydratée. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

3.5.2. Préparation de la galerie et l'inoculum

Premièrement, chaque galerie (Biomérieux, France) est identifiée avec le code de la souche à identifier. Ensuite, à l'aide d'une seringue stérile, une quantité de 5 ml d'eau physiologique est répartie dans les alvéoles de la galerie pour créer une atmosphère humide. Ensuite, la galerie est déposée de manière stérile dans la boîte d'incubation.

A partir d'une culture bactérienne jeune de 18 à 24h, 2 à 3 colonies sont mises en suspension dans un tube contenant 6 ml d'eau physiologique. Un inoculum d'opacité de 0.5 MacFarland est donc obtenu.

3.5.3. Inoculation de la galerie

L'ensemencement des tubes et cupules de la galerie avec la suspension bactérienne se fait à l'aide d'une seringue stérile ou bien une pipette Pasteur, en posant la pointe de la seringue sur la paroi de la cupule, et en inclinant légèrement la boîte d'inhibition vers l'avant de manière à ne pas créer de bulles d'air (figure 21). L'ensemencement se fait comme suit :

- Ensemencement des tubes et cupules : tests CIT, VIP et GEL ;
- Ensemencement des tubes uniquement : les autres tests ;
- Création d'une anaérobiose : tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule avec l'huile de paraffine.

Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

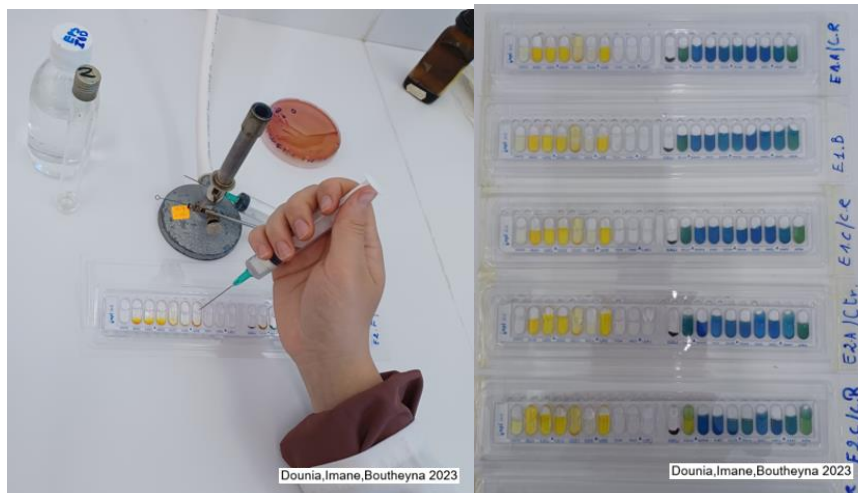


Figure 21 : Inoculation de la galerie API20E

3.5.4. Lecture de la galerie

Après incubation et ajout des réactifs suivants TDA (au test TDA), Kovac's (au test IND), VP1 et VP2 au test (VP), les résultats sont lus directement en ligne sur Lab.upbm.org.

3.6. Conservation des souches bactériennes

Les souches sont finalement conservées en ensemençant le culot d'une gélose nutritive (GN) inclinée, par piqûre centrale et par des stries sur la pente, à l'aide d'une pipette Pasteur (figure 22). Les cultures sont conservées au réfrigérateur à une température de +4°C.



Figure 22 : Conservation des souches dans le milieu GN incliné.

Chapitre III

Résultats & discussion

1. Prévalence des entérobactéries résistantes à la Céfotaxime (CTX^R)

Parmi les 39 échantillons analysés dans cette étude, tous types confondus, 18 se sont montrés contaminé par les entérobactéries CTX^R et 24 souches ont été isolées, soit une prévalence de 46,16% (figure 23).

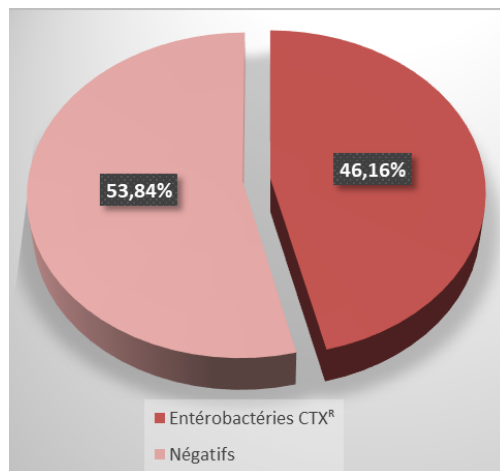


Figure 23 : Prévalence des échantillons contaminés par les entérobactéries CTX^R

Pour ce qui est de la prévalence de contamination de chaque type d'échantillons, 9/15 échantillons de foie de poulet se sont révélés contaminés par les entérobactéries CTX^R (60%), 8/9 des échantillons des eaux usées (88,89%) et 1/15 de ceux de la monnaie (6,65%), comme illustré dans la figure ci-dessous.

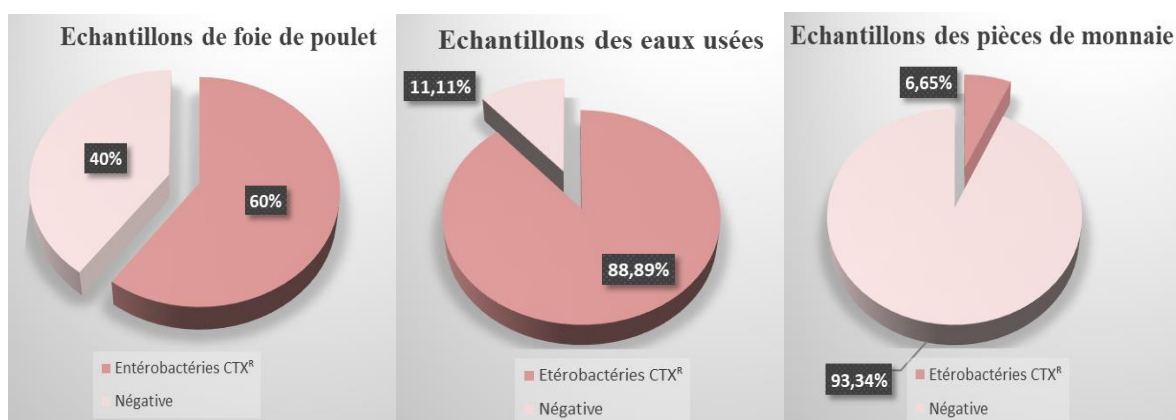


Figure 24 : Prévalence des échantillons contaminés par les entérobactéries CTX^R selon le type d'échantillons

2. Prévalence des entérobactéries productrices de BLSE

Parmi les 24 souches d'entérobactéries CTX^R isolées, 17 souches étaient productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE), soit une prévalence évaluée à 70,83% (figure 25). La répartition des souches BLSE selon leur origine est représentée dans le tableau III.

Tableau III : Répartition des souches BLSE selon leur origine.

	Prévalence par type d'échantillons	Prévalence totale
Foie de poulet	11/11 (100%)	11/17 (64,71%)
Eaux usées	6/12 (50%)	6/17 (35,29%)
Monnaie	0/1 (0%)	0%
Total	17	100%

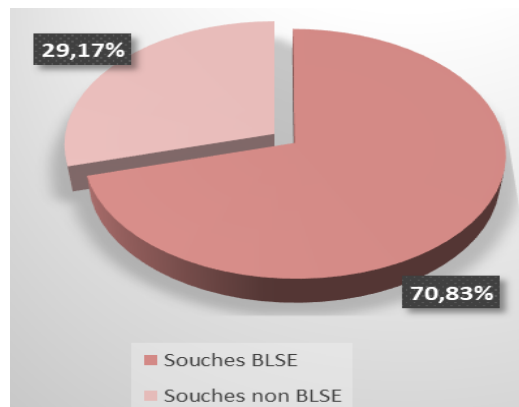


Figure 25 : Prévalence totale des souches BLSE

3. Prévalence des entérobactéries résistantes à l'Imipénème (IMP^R)

Parmi les 24 souches isolées au screening, 4 ont exprimé une résistance à l'encontre de l'Imipénème, soit un taux évalué à 16,66% (figure 26).

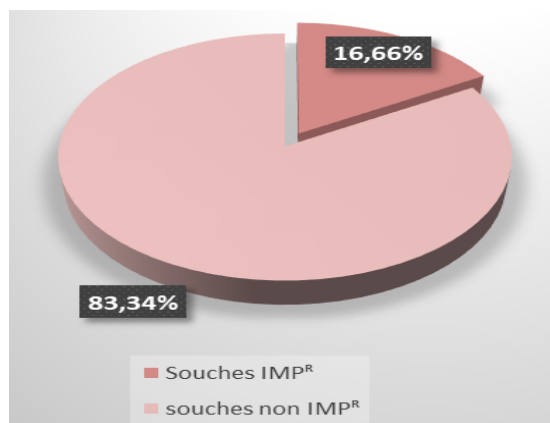


Figure 26 : Prévalence des souches IMP^R

4. Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées

4.1. Antibiorésistance des souches isolées du foie de poulet

Au total, 11 antibiotiques ont été testés sur chacune des 11 entérobactéries isolées du foie. Les résultats de l'antibiogramme sont résumés dans le tableau IV et la figure 27.

Tableau IV : Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées du foie de poulet

Antibiotique	R	I	S
AMC	3 (27,28%)	4 (36,35%)	4 (36,37%)
CAZ	2 (18,17%)	/	9 (81,83%)
CTX	11 (100%)	/	/
FEP	11 (100%)	/	/
IMP	/	/	11 (100%)
AK	/	/	11 (100%)
TE	7 (63,64%)	2 (18,18%)	2 (18,18%)
COT	8 (72,73%)	/	3 (27,27%)
CN	/	/	11 (100%)
CIP	5 (45,46%)	2 (18,18%)	4 (36,36%)
C	1 (9,09%)	/	10 (90,91%)

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique, CAZ : Céfazidime, CTX : Céfotaxime, FEP : Céfépime, IMP : Imipenème, AK : Amikacine, TET : Tétracycline, COT : Co-trimoxazole, CN : Gentamicine, CIP : Ciprofloxacine, C : Chloramphénicol, R : Résistante / I : Intermédiaire / S : Sensible

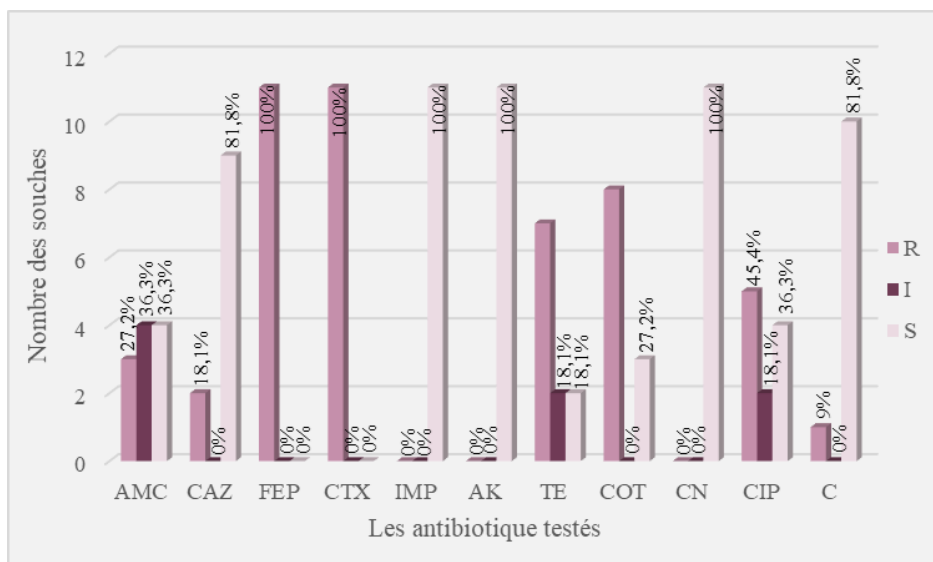


Figure 27 : Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées du foie de poulet

4.2. Antibiorésistance des souches isolées des eaux usées

En ce qui concerne les eaux usées, la mesure des diamètres d'inhibition des 12 entérobactéries isolées a donné les résultats résumés dans le tableau V et la figure 28.

Tableau V : Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées des eaux usées.

	R	I	S
AMC	3 (25%)	1 (8,33%)	8 (66,66%)
CAZ	3 (25%)	4 (33,33%)	5 (41,66%)
FEP	10 (83,33%)	2 (16,66%)	/
CTX	11 (91,66%)	1 (8,33%)	/
IMP	3 (25%)	4 (33,33%)	5 (41,66%)
AK	/	/	12 (100%)
TE	9 (75%)	1 (8,33%)	2 (16,66%)
COT	11 (91,66%)	/	1 (8,33%)
CN	1 (8,33%)	/	11 (91,66%)
C	/	/	12 (100%)

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique, CAZ : Céfotaxime, CTX : Céfotaxime, FEP : Céfépime, IMP : Imipenème, AK : Amikacine, TET : Tétracycline, COT : Co-trimoxazole, CN : Gentamicine, CIP : Ciprofloxacine, C : Chloramphénicol, R : Résistante / I : Intermédiaire / S : Sensible

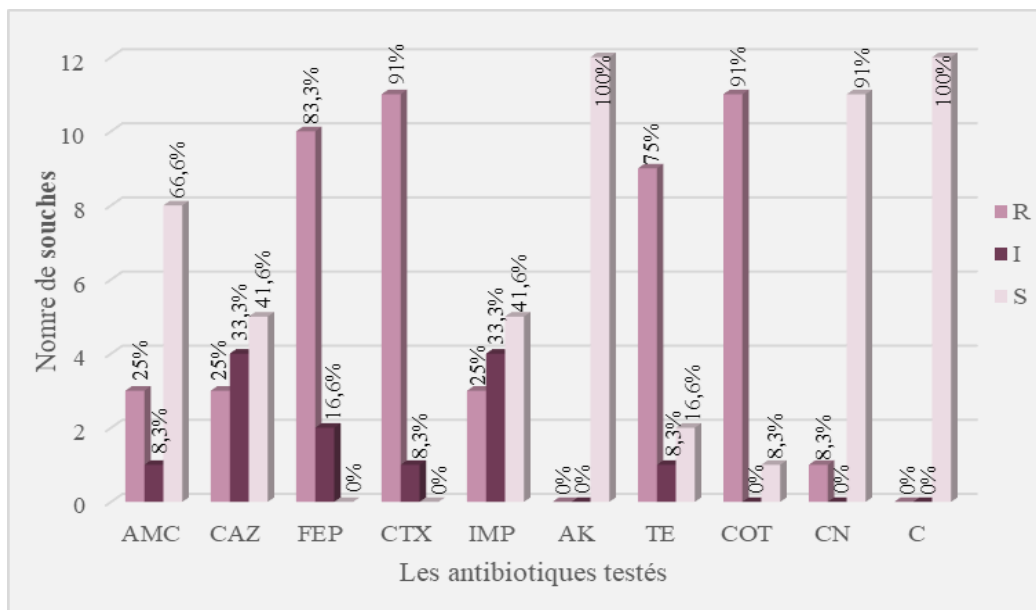


Figure 28 : Antibiorésistance des souches d'entérobactéries isolées des eaux usées

4.3. Antibiorésistance des souches isolées de la monnaie

La seule souche isolée à partir de la monnaie a montré une résistance vis-à-vis de la Céfotaxime, le Céfpime, l'Imipenème, l'Amoxicilline+ acide clavulanique, la Tétracycline, l'Amikacine. Cependant, elle était sensible à la Ceftazidime, au Chloramphénicol et intermédiaire à la Gentamicine.

5. Identification des souches d'entérobactéries isolées par galerie API 20E

Comme montré dans la figure 29, l'utilisation du système miniaturisé API20 E dans l'identification des souches a permis de dévoiler la présence de 3 espèces d'entérobactéries différentes à savoir : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella* spp. Toutefois, 6 souches n'ont pas pu être identifiées vu l'épuisement de la galerie. Le pourcentage d'identification de chaque souche est donné dans l'annexe 5.

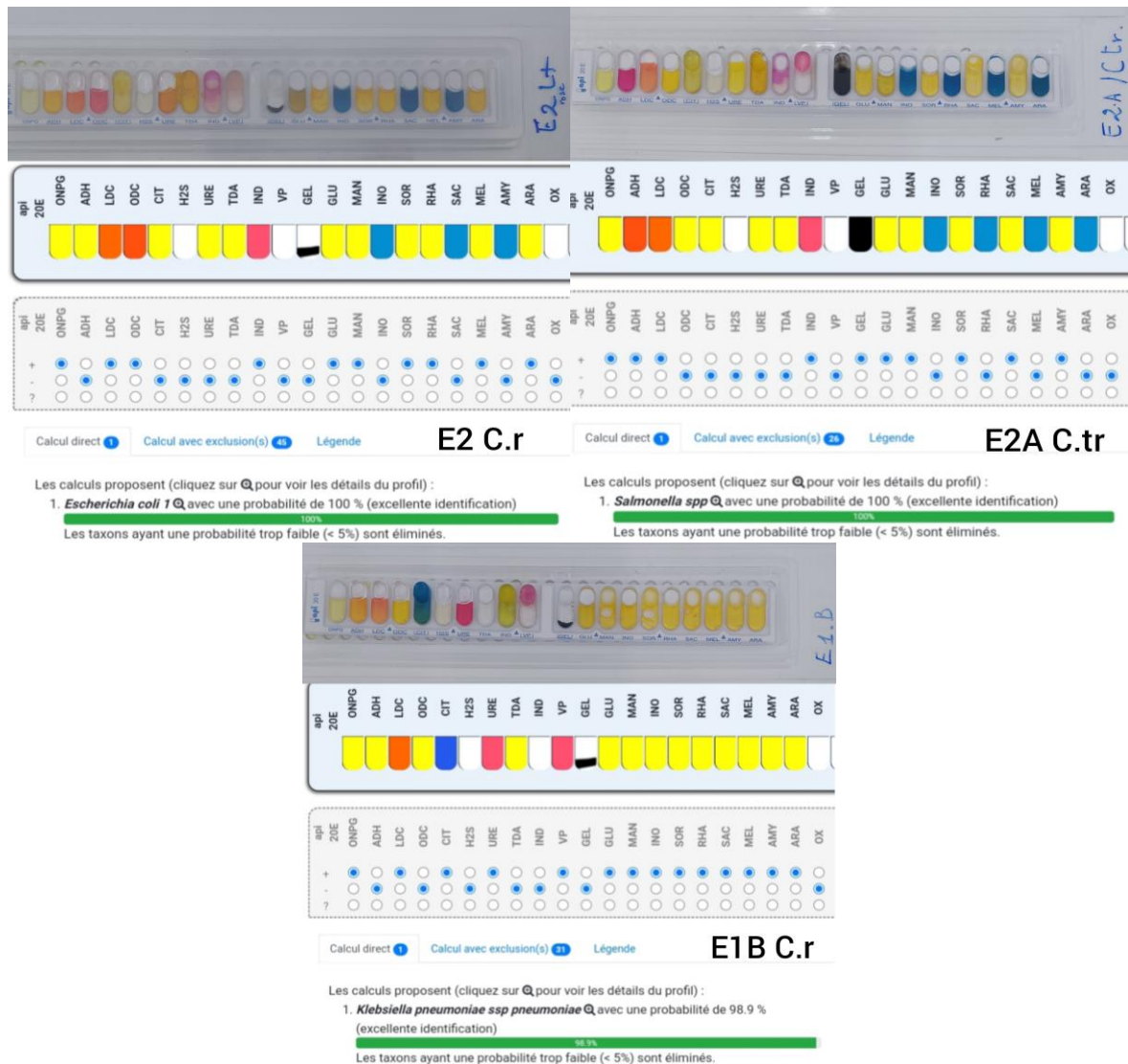


Figure 29 : Identification des souches par galerie API 20E.

5.1. Identification des souches BLSE isolées

Le résultat d'identification des différentes souches BLSE est présenté dans le tableau suivant :

Tableau VI : Répartition des souches BLSE selon l'espèce

Espèces	Nombre de souches	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	9	52,94%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	29,41%
Non identifiée	3	17,64%
Total	17	100 %

5.2. Identification des souches IMP^R isolées

Le résultat d'identification des différentes souches IMP^R est présenté dans le tableau suivant :

Tableau VII : Répartition des souches IMP^R selon l'espèce

Espèces	Nombre des souches	Pourcentage
<i>Salmonella</i> spp.	1	25%
Non identifiée	3	75%
Total	4	100 %

6. Phénotypes de résistance des souches BLSE isolées

Les phénotypes de résistance (antibiogrammes) des différentes souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées à partir des trois origines sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau VIII : Phénotypes de résistance et multi-résistance des souches BLSE isolées.

Origine	Code de la souche	Espèce	Phénotype de résistance	Multi-résistance
Foie de poulet	E2 Cr	<i>Escherichia coli</i>	AMC-FEP-CTX-TE-COT-C	Oui
	E3 Cr		FEP-CTX-COT	/
	E4 Cr		FEP-CTX-COT-CIP	Oui
	E5 Cr		FEP-CTX-TE	/
	E5 C.tr		FEP-CTX-COT-CIP	Oui
	E7 Cr		FEP-CTX-TE-COT	Oui
	E8 Cr		FEP-CTX-TE-COT-CIP	Oui
	E9 Cr		FEP-CTX	/
	E10 Cr		AMC-CAZ-FEP-CTX-TE-COT-CIP	Oui
	E10 C.tr		AMC-CAZ-FEP-CTX-TE	/
	E12 Cr		FEP-CTX-TE-COT-CIP	Oui
	Eaux usées		E1 A Cr	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
E1 B Cr		CTX-FEP-TE-COT		
E1 C Cr				
E2 B C.tr		NI	CTX-FEP-IMP-CN	/
E2 C Cr		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAZ-CTX-FEP-COT-TE-CN	Oui
E2 F Cr			CTX-FEP-TE-COT	Oui

E : Echantillon, *Cr* : colonie rose, *C tr* : colonie transparente, *NI* : non identifiée

7. Discussion :

Bien que de nombreuses études portant sur la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries aient été réalisées, dans les trois origines, des recherches supplémentaires sur ces sujets sont toujours nécessaires.

Dans notre étude, le pourcentage d'isolement des entérobactéries résistantes à la Céfotaxime est presque la moitié des échantillons (18/39), dont 60% (9/15) est de foie de poulet, 88.89% (8/9) des eaux usées et 6.65% (1/15) des pièces de monnaie. La fréquence d'isolement des bactéries CTX^R est donc considérablement plus élevée dans les échantillons de foie de poulet que dans ceux d'eaux usées, tandis que les échantillons de de monnaie présentent un taux de contamination très faible.

Cette résistance aux antibiotiques chez les poulets de chair est principalement due à l'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques dans l'élevage avicole, à la fois, à titre curatif et préventif. Lorsque les bactéries sont exposées à des doses d'antibiotiques sous-thérapeutiques pendant de longues périodes, cela peut favoriser le développement de résistance. Les antibiotiques sont couramment utilisés pour prévenir les maladies et favoriser la croissance des poulets. Les bactéries résistantes peuvent également transférer leurs gènes de résistance à d'autres bactéries. En conséquence, la consommation de poulet de chair peut être une source potentielle de bactéries résistantes pour les humains, ce qui compromet l'efficacité des antibiotiques dans le traitement des infections.

La présence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les eaux usées est le résultat de l'excrétion d'antibiotiques par les êtres humains et les animaux, du transfert de gènes de résistance entre les bactéries et du manque d'élimination efficace de ces bactéries lors du traitement des eaux usées.

Pour ce qui est de la monnaie, la présence de bactéries résistantes est due contact avec les mains qui peuvent transporter ces bactéries. Cependant, la faible fréquence d'isolement sur les pièces de monnaie peut s'expliquer par le fait que la survie des bactéries sur les surfaces métalliques des pièces de monnaie est généralement limitée.

Dans la présente étude, on a trouvé que le taux d'isolement des BLSE représente presque les trois quarts du totale des souches CTX^R.

En ce qui concerne la prévalence de chaque type d'échantillonnage, on peut conclure que la prévalence des souches BLSE dans nos échantillons de foie de poulet est de 73,33%.

Ces valeurs sont très élevées par rapport aux autres études, notamment celle de **Chenouf et al., (2021)** qui ont enregistré un pourcentage de 9,6% de souches BLSE isolés à partir de 136 échantillons de foie de poulet dans les marchés de détail de la région de Djelfa. De même, **Belmahdi et al., (2016)** et **Halfaoui et al., (2017)**, ont obtenu des taux d'isolement évalués respectivement à 26,22% et 1,66% à partir de 61 et 180 échantillons de poulet de chair. En Turquie, **Tekiner et al., (2016)** ont affiché une prévalence estimée à hauteur de 29%, à partir de 100 échantillons de viande de poulet.

Il est à rappeler que la prévalence des souches BLSE isolées à partir des eaux usées est 66,6%. Ce taux est aussi élevé par rapport à plusieurs autres études citées dans la littérature. En Algérie, **Alouache et al., (2014)** ont rapporté que le pourcentage des souches BLSE isolées à partir de 48 échantillons d'eaux usées urbaines est de 83,3%. En revanche, en Tunisie, des fréquences estimées à 47,2% et 30,83% ont été détectées par **Sghaïer et al., (2019)** et **Hassen et al., (2020)** sur un total de 123 et 120 échantillons respectivement.

Ces différences de prévalence entre les résultats obtenus dans cette étude et ceux d'autres études est dû, en grande partie, au nombre d'échantillons limité. La méthode d'isolement des souches BLSE peut aussi constituer un autre facteur qui influe sur la prévalence des BLSE (addition ou non de Céfotaxime dans le milieu d'isolement).

Par contre, aucune souche BLSE n'a été isolée à partir des 15 échantillons de monnaie. Ces données sont similaires de celles présentées dans une étude similaire menée dans la wilaya de Batna par **Bendjama et al., (2020)**, qui ont réussi à isoler 12 souches BLSE à partir d'un total de 408 échantillons de pièces de monnaie. L'absence des BLSE dans nos échantillons de monnaie est fortuitement lié au nombre réduit d'échantillon et ne reflète absolument pas la prévalence réelle.

Pour ce qui est des 5 souches qui se sont révélées CTX^R à l'antibiogramme avec absence de l'image de synergie, ceci est expliqué par l'implication d'un autre type d'enzymes appelées les Céphalosporinases chromosomiques (AmpC) comme signalé par **Carvalho et al., (2021)**. Cependant, une étude moléculaire reste nécessaire pour connaître la nature de ces enzymes et les gènes codant ces résistances.

En ce qui concerne les résultats de l'antibiogramme, une différence dans le profil de résistance et de sensibilité des différentes souches isolées a été observée dans les trois origines de prélèvement.

Pour l'antibiorésistance des souches d'entérobactérie isolées du foie de poulet, nous avons noté une résistance élevée évaluée à 100% pour la Céfotaxime et la Céfépime. Ces taux dépassent largement ceux de l'étude de **Chenouf et al., (2021)** qui ont obtenu des pourcentages de 10,9% pour la FEP et 2,7% pour la CTX, et de **Belmahdi et al., (2016)** qui ont communiqué des taux de 20% pour la FEP et 15% pour la CTX. La résistance élevée aux céphalosporines de 3ème et de 4ème génération est attribuée à la forte utilisation des β -lactamines dans les élevages de volailles, en raison de la présence fréquente d'infections virales qui entraînent inévitablement des infections bactériennes secondaires, principalement la colibacillose causée par *E. coli*, comme communiqué par **Halfaoui et al., (2017)** et **Chenouf et al., (2021)**.

En ce qui concerne l'Amoxicilline associée à l'Acide clavulanique, la Ceftazidime et le Chloramphénicol, nous avons enregistré des faibles résistances évaluées respectivement à 27,28%, 18,17% et 9%. Nous avons trouvé des taux moyens de résistance à la TE de 63,64% et à la COT de 72,73% et un pourcentage de 45,46% pour le CIP. L'absence de résistance à la l'Amikacine, l'Imipénème et la Gentamicine, nous laisse suggérer que ces molécules restent encore un choix de traitement contre ces bactéries.

D'autre part, 25% des souches isolées d'eaux usées et la seule souche isolée de la monnaie ont exprimé une résistance à l'encontre de l'Imipénème. Ce résultat est alarmant étant donné que les molécules faisant partie de la classe de carbapénèmes sont à usage strictement hospitalier et constituent des traitements de choix contre les infections sévères et compliquées causées par les bactéries multi-résistantes (BMR) et celles productrices de BLSE. Des études plus approfondies sur ces souches productrices de carbapénémases semblent nécessaires.

Pour l'identification, les deux bactéries *E. coli* et *K. pneumoniae* ont enregistré les taux d'isolement les plus élevés, avec respectivement 52,94% et 29,41% des souches BLSE. Ces observations sont en accord avec la littérature, et ceci est expliqué par le fait que ces germes sont des habitants courants et normaux du tractus intestinal chez les humains et les animaux et peuvent, de ce fait, être facilement disséminés dans la nature.

Conclusion

Conclusion

La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries constitue une préoccupation majeure pour la santé publique en raison de la difficulté de leur traitement. Parmi les mécanismes les plus importants et répandus, la production de β -lactamases vient en première position, notamment celles de types BLSE et carbapénèmases.

Notre étude, réalisée sur un total de 39 échantillons de foie de poulet, eaux usées et monnaie, nous a permis, d'une part, de déterminer la prévalence des souches productrices de BLSE, et d'autre part d'étudier le profil de résistance des souches d'entérobactéries isolées

Sur 39 échantillons analysés, 18 (46,16%) ont été contaminés par les entérobactéries CTX^R et 24 souches ont été isolées. Aussi, 17 souches étaient des productrices de BLSE avec la répartition suivantes: 64,71%) dans le foie de poulet et 35,29% dans les eaux usées. Cependant, aucune souche BLSE n'a été détectée dans les échantillons de monnaie.

Les résultats de l'antibiogramme indiquent que les taux de résistance les plus élevés ont été enregistrés à l'encontre de la Céfotaxime, le Céfépime, le Co-trimoxazole et la Tétracycline. En revanche, les taux de résistances les plus faibles ont été observés pour l'Impénème, la Gentamicine, le Chloramphénicol et l'Amikacine.

Le test d'identification des souches d'entérobactéries BLSE par la galerie API 20E a révélé la présence de deux espèces différentes : *Escherichia coli* 52,94% et *Klebsiella pneumoniae* 29,41%.

D'autre part, 25% des souches isolées d'eaux usées et la seule souche isolée de la monnaie ont exprimé une résistance à l'encontre de l'Impénème, réparties entre *Salmonella* spp et des souches non identifiées .

A la lumière de ses résultats, nous disons qu'il est essentiel de mettre en place des programmes de suivi et de lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques, dans les différents niches écologiques de la région de BBA. Pour ce qui est de la lutte, nous pensons que ça doit commencer par l'optimisation de l'utilisation d'antibiotiques aussi bien chez l'homme que chez l'animal, le respect des bonnes pratiques d'hygiène tout au long du processus de production avicole, la réalisation de tests de dépistage bactériologique réguliers et le contrôle strict des aliments d'origine animale.

De plus, il convient de promouvoir des pratiques de gestion des eaux usées efficaces, telles que le traitement approprié des eaux avant leur rejet dans l'environnement, en utilisant des produits chimiques spécifiques pour éliminer les bactéries résistantes.

Parallèlement, il est crucial de promouvoir le lavage régulier des mains, aussi bien chez les utilisateurs de pièces de monnaie que chez les personnes qui les manipulent, tout en encourageant l'utilisation de solutions désinfectantes ou de lingettes antibactériennes. En outre, il est recommandé de procéder régulièrement au nettoyage des distributeurs automatiques de monnaie.

Références
Bibliographique

Référence bibliographique :

- Alouache, S., Estepa, V., Messai, Y., Ruiz, E., Torres, C., & Bakour, R. (2014). Characterization of ESBLs and associated quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from an urban wastewater treatment plant in Algeria. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 20(1), 30–38. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0264>
- Baba Ahmed-Kazi Tani, Z., & Arlet, G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, 62(3), 169–178. doi:10.1016/j.patbio.2014.01.005
- Bakhom I. (2004). Contrôle qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse Pharm.N °8.
- Belmahdi, M., Bakour, S., Al Bayssari, C., Touati, A., & Rolain, J.-M. (2016). Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase- and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Bejaïa, Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 6, 108–112. doi:10.1016/j.jgar.2016.04.006
- Bendjama, E., Loucif, L., Chelaghma, W., Attal, C., Bellakh, F. Z., Benaldjia, R., Kahlat, I., Meddour, A., & Rolain, J. M. (2020). First detection of an OXA-48-producing *Enterobacter cloacae* isolate from currency coins in Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 23, 162–166. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.09.003>.
- Bossert, I. D., & Young, L. Y. (1986). Anaerobic oxidation of p-cresol by a denitrifying bacterium. *Applied and environmental Microbiology*, 52(5), 1117-1122.
- Brolund, A. (2014). Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. *Infection Ecology & Epidemiology*, 4(1), 24555. doi:10.3402/iee.v4.24555
- Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important! *Pharmactuel*, 42 ,6-21 .
- Carvalho, I., Safia Chenouf, N., Cunha, R., Martins, C., Pimenta, P., Pereira, A. R., Martínez-Álvarez, S., Ramos, S., Silva, V., Igrejas, G., Torres, C., & Poeta, P. (2021). Antimicrobial Resistance Genes and Diversity of Clones among ESBL- and Acquired AmpC-Producing *Escherichia coli* Isolated from Fecal Samples of Healthy and Sick Cats in Portugal. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(3), 262. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030262>
- Cattoir, V., & Daurel, C. (2010). Quelles nouveautés en antibiothérapie Médecine et Maladies Infectieuses, 40(3), 135–154. doi:10.1016/j.medmal.2009.10.009
- Cavallo, J.-D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., & Garrabé, E. (2004). Bêtalactamines. *EMC - Maladies Infectieuses*, 1(3), 129–202. doi:10.1016/j.emcmi.2004.03.003
- Chenouf, N. S., Carvalho, I., Messaï, C. R., Ruiz-Ripa, L., Mama, O. M., Titouche, Y., ... Torres, C. (2021). Extended Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Broiler Liver in the Center of Algeria, with Detection of CTX-M-55 and B2/ST131-CTX-M-15 in *Escherichia coli*. *Microbial Drug Resistance*. doi:10.1089/mdr.2020.0024

- Chow, K. M., Hui, A. C., & Szeto, C. C. (2005). Neurotoxicity induced by beta-lactam antibiotics: from bench to bedside. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology, 24(10), 649–653. <https://doi.org/10.1007/s10096-005-0021-y>
- Coates, A., Hu, Y., Bax, R., & Page, C. (2002). The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1(11), 895–910. doi:10.1038/nrd940
- Coates, A.; and Hu, Y. (2007). - Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial infections. *British Journal of Pharmacology*, 152, 1147–1154.
- Fisher, J. F., Meroueh, S. O., & Mobashery, S. (2005). Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chemical reviews*, 105(2), 395–424. <https://doi.org/10.1021/cr030102i>
- Grøndahl, T. Ø., & Langmoen, I. A. (1993). Epileptogenic effect of antibiotic drugs, *Journal of Neurosurgery*, 78(6), 938-943. Retrieved May 8, 2023,
- Guardabassi, L., & Courvalin, P. (2006). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance: chapter 1. In F. M. Aarestrup (Ed.), *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin* (pp. 1-18). ASM Press.
- Halfaoui, Z., Menoueri, N. M., & Bendali, L. M. (2017). Serogrouping and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from broiler chicken with colibacillosis in center of Algeria. *Veterinary world*, 10(7), 830–835. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.830-835>
- Hassen, B., Abbassi, M. S., Benlabidi, S., Ruiz-Ripa, L., Mama, O. M., Ibrahim, C., ... Torres, C. (2020). Genetic characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from wastewater and river water in Tunisia: predominance of CTX-M-15 and high genetic diversity. *Environmental Science and Pollution Research*. doi:10.1007/s11356-020-10326-w
- Helfand, W. (1982). Histoire des antibiotiques: The History of Antibiotics, a Symposium. *Revue d'Histoire de la Pharmacie*, 70(252), 69-71.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2021). The Changing Face of the Family *Enterobacteriaceae* (Order: "*Enterobacterales*"): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. *Clinical microbiology reviews*, 34(2), e00174-20. <https://doi.org/10.1128/CMR.00174-20>
- Loucif, L., Chelaghma, W., Helis, Y., Sebaa, F., Baoune, R. D., Zaatout, W., & Rolain, J.-M. (2018). First detection of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in community-acquired urinary tract infection in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12, 115–116. doi:10.1016/j.jgar.2017.12.017
- Mariani-Kurkdjian, P., Doit, C., & Bingen, E. (2012). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu en pédiatrie. *Archives de Pédiatrie*, 19, S93–S96. doi:10.1016/s0929-693x(12)71280-0.
- Medeiros, A.A. 1984. β -lactamases. *Bnt. Med. Buli.* 40: 18-27

- Michel-Briand, Y. (2007). La résistance aux β -lactamines les plus récentes : les mécanismes d'apparition et de diffusion de la résistance chez les entérobactéries. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 191(1), 35–51. doi:10.1016/s0001-4079(19)33114-0
- Muylaert A., MAINIL J.G .(2012) . Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » . *Ann. Méd. Vét.*, 156, 109- 123
- Nordmann, P., & Carrer, A. (2010). Les carbapénèmases des entérobactéries. *Archives de Pédiatrie*, 17, S154–S162. doi:10.1016/s0929-693x(10)70918-0
- Nordmann, P., Dortet, L., & Poirel, L. (2012). Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends in Molecular Medicine*, 18(5), 263–272. doi:10.1016/j.molmed.2012.03.003
- Paterson, D. L. (2006). Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. *The American Journal of Medicine*, 119(6), S20–S28. doi:10.1016/j.amjmed.2006.03.013
- Ruppé, E. (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*, 12(1), 3–16. doi:10.1016/j.antib.2010.01.003
- Ruppé, É., Woerther, P.-L., & Barbier, F. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Annals of Intensive Care*, 5(1). doi:10.1186/s13613-015-0061-0
- Sghaier, S., Abbassi, M. S., Pascual, A., Serrano, L., Díaz- De-Alba, P., Ben Said, M., ... Lopez-Cerero, L. (2019). ESBL-producing Enterobacteriaceae from animal origins and wastewater in Tunisia: first detection of O25b-B23-CTX-M-27-ST131 *Escherichia coli* and CTX-M-15-OXA-204-producing *Citrobacter freundii* from wastewater. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. doi:10.1016/j.jgar.2019.01.002
- Sirot, J. (1996). Detection of extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases by disk diffusion. *Clinical Microbiology and Infection*, 2, S35–S39. doi:10.1111/j.1469-0691.1996.tb00873.x
- Souna, D., Sefraoui, I., & Drissi, M. (2011). Résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes (Algérie). *Microbiol. Hyg. Alim*, 23, 37-41.
- Tekiner, İ. H., & Özpınar, H. (2016). Occurrence and characteristics of extended spectrum β -lactamases-producing Enterobacteriaceae from foods of animal origin. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 444–451. doi:10.1016/j.bjm.2015.11.034
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology*. doi:10.1016/j.jmb.2019.04.002
- Vander Stichele, RH, Elseviers, MM, Ferech, M., Blot, S., & Goossens, H. (2004). Surveillance européenne de la consommation d'antimicrobiens (ESAC) : performances de la collecte de données et approche méthodologique. *Journal britannique de pharmacologie clinique*, 58(4), 419–428. doi:10.1111/j.1365-2125.2004.02164.x
- Vora, S., Auckenthaler, R. (2009), Que signifie « bêtalactamases à spectre élargi » en pratique, *Rev Med Suisse*, -5, no. 220, 1991–1994.

Annexe 1 : Échantillonnage de foie de poulet.

Les échantillons	La date d'éviscération	Le nom et le lieu d'abattage	La date de prélèvement	Le lieu de prélèvement
Ech 1	11-03-2023	El Yachir BBA	12-03-2023	El-Koucha BBA
Ech 2	11-03-2023	Maarcha RAS EL OUED	12-03-2023	Rue Syari Al Masoud RAS EL OUED
Ech 3	11-03-2023	Maarcha RAS EL OUED	12-03-2023	Lotissement 400 Bouras - RAS EL OUED
Ech 4	17-03-2023	Bechène RAS EL OUED	18-03-2023	Rue khanfer bachir RAS EL OUED
Ech 5	17-03-2023	Bébé RAS EL OUED	18-03-2023	Lotissement 400 Bouras - RAS EL OUED
Ech 6	18-03-2023	El Yachir BBA	19-03-2023	La graffe BBA
Ech 7	18-03-2023	El Yachir BBA	19-03-2023	Bab soug BBA
Ech 8	18-03-2023	Bébé Djamel RAS EL OUED	19-03-2023	Rue Saïd Rabah RAS EL OUED
Ech 9	18-03-2023	Bechène RAS EL OUED	19-03-2023	Rue Saïd Rabah RAS EL OUED
Ech 10	24-02-2023	Dahmani la zone industrielle de BBA	25-03-2023	Lotissement Belarbi BBA
Ech 11	24-03-2023	Mebarkia la zone industrielle de BBA	25-03-2023	Hasnawa BBA
Ech 12	25-03-2023	Bechène RAS EL OUED	26-03-2023	Rue Zaraz lahlali RAS EL OUED
Ech 13	25-03-2023	Mahdia Ain Arnat SÉTIF	26-03-2023	Cité 1 mai RAS EL OUED
Ech 14	25-03-2023	Ain taghrout SIDI MBAREK	26-03-2023	Route nationale n° 5 SIDI MBAREK
Ech 15	25-03-2023	Bébé Djamel RAS EL OUED	26-03-2023	Rue Al-bachir Achour RAS EL OUED

Annexe 2 : Échantillonnage des pièces de monnaie.

Les échantillons	Le nom de prélèvement	Le lieu de prélèvement	La date de prélèvement
M 1	Laiterie	19 MARS 1963 - RAS EL OUED	08/04/2023
M 2 (billet)	Fruiterie	Lotissement 400 bouras - RAS EL OUED	08/04/2023
M 3	Receveur de bus	La gare routière de RAS EL OUED	08/04/2023
M4(billet)	SARL jawharat el biban	La zone industrielle REMIAL- RAS EL OUED	08/04/2023
M 5	Vendeur ambulant de nougat	Rue de - RAS EL OUED	08/04/2023
M 6	Boulangerie	Rue lourde - RAS EL OUED	08/04/2023
M 7	Supermarché	Rue lourde - RAS EL OUED	08/04/2023
M 8	Boucherie	Rue Chaddad Al-Saeed RAS EL OUED	08/04/2023
M 9	Cafétéria	Rue Chaddad Al-Saeed RAS EL OUED	08/04/2023
M 10(billet)	Poissonnerie	Rue Chaddad Al-Saeed RAS EL OUED	08/04/2023
M 11	Vendeur ambulant de maïs	El-koucha BBA	08/04/2023
M 12	Taxieur	La ville de BBA	08/04/2023
M 13	Epicerie	Lots 1008 - BBA	08/04/2023
M14(billet)	Vendeur ambulant de légumes	Mounia BBA	08/04/2023
M 15	Vendeur ambulant de Cherbet	19 Mars 1962 RAS EL OUED	08/04/2023

Annexes 3 : Matériel

Outils informatiques :

- ❖ Word Microsoft Office 2016
- ❖ Excel Microsoft Office 2016

Consommable :

- ❖ Boîtes Pétri ;
- ❖ Pots stériles ;
- ❖ Les écouvillons ;
- ❖ Disques d'antibiotiques ;
- ❖ Eau physiologique 0,9% ;
- ❖ Eau distillée ;
- ❖ Galerie API20E ;
- ❖ Tubes à essais ;
- ❖ Pipette Pasteur ;
- ❖ Erlenmeyer ;
- ❖ Flacons stériles à 180 ml ;
- ❖ Alcool 70° C ;
- ❖ Eau de javel.

Milieux de culture et réactifs :

- ❖ MacConkey Agar milieu sélectif d'isolement les entérobactéries ;
- ❖ Gélose Hektoen milieu sélectif d'isolement des entérobactéries ;
- ❖ Gélose Mueller Hinton (MH) pour l'antibiogramme ;
- ❖ Gélose nutritive (GN) pour la conservation des souches bactériennes ;
- ❖ Bouillon Nutritif (BN) un milieu d'enrichissement ;
- ❖ Réactif kovac's ;
- ❖ Réactif VP1 et VP2 ;
- ❖ Réactif TDA ;
- ❖ L'huile de paraffine.

Appareillage

- ❖ Autoclave 15 min à 121°C ;

- ❖ Etuve à 37° C ;
- ❖ Bain marie ;
- ❖ Réfrigérateur ;
- ❖ Agitateur magnétique + plaque chauffante et baromètre ;
- ❖ Bec Bunsen, portoir ;
- ❖ Pince, ciseau ;
- ❖ Anse de platine ;
- ❖ Micropipette, les embouts ;
- ❖ Balance ;
- ❖ Seringues.

Annexe 4 : Les valeurs critiques recommandées par CLSI (2020)

	Les antibiotiques	Diamètre de critique en (mm)	
		R	S
1	Amoxicilline + acide clavulanique (20/10 µg)	≤ 13	≥ 18
2	Ceftazidime (30 µg)	≤ 17	≥ 21
3	Céfépime (30 µg)	≤ 18	≥ 25
4	Céfotaxime (30 µg)	≤ 22	≥ 26
5	Imipénème (10 µg)	≤ 19	≥ 23
6	Amikacin (30 µg)	≤ 14	≥ 17
7	Tétracycline (30 µg)	≤ 11	≥ 15
8	Co-trimoxazole (25 µg)	≤ 10	≥ 16
9	Gentamicine (10 µg)	≤ 12	≥ 15
10	Ciprofloxacine (5 µg)	≤ 21	≥ 26
11	Chloramphénicol (30 µg)	≤ 12	≥ 18

Résumé :

La production des bêta-lactamases est le mécanisme de résistance le plus répandu, notre étude a pour objet de détecter la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE dans les 39 échantillons collectés à BBA à partir de trois origines de prélèvements : foie de poulet, eaux usées et monnaie algérienne (pièces et billets), 17 souches d'entérobactéries productrices des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) ont été isolées (70,83%). In vitro, l'antibiogramme a été réalisé sur les isolats à l'encontre de 11 antibiotiques, en utilisant la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats indiquent que les taux de résistance les plus élevés sont enregistrés vis-à-vis de la Céfotaxime (100%), le Céfépime (100%), le Co-trimoxazole (91,66%) et la Tétracycline (75%). Les souches productrices de BLSE ont été identifiées comme *Escherichia coli* 52,94% et *Klebsiella pneumoniae* 29,41%.

Mots clés : Entérobactéries, BLSE, foie de poulet, eaux usées, monnaie algérienne, Bordj Bou Arreridj.

Abstract:

The production of beta-lactamases is the most common resistance mechanism, our study aims to detect the prevalence of ESBL-producing enterobacteriaceae in the 39 samples collected at BBA from three sources of samples: chicken liver, wastewater and Algerian currency (coins and banknotes), 17 extended-spectrum β -lactamases (ESBL)-producing isolates were detected (70,83%). In vitro, the antibiogram was carried out against 11 antibiotics, using the disk diffusion agar method. Results showed that the highest resistance rates were recorded towards Cefotaxime (100%), Cefepim (100%), Co-trimoxazole (91.66%) and Tetracyclin (75%). The ESBL-producing isolates were identified as *Escherichia coli* 52.94% and *Klebsiella pneumoniae* 29.41%.

Key words: *Enterobacteriaceae*, ESBL, chicken liver, Wastewater, Algerian currency, Bordj Bou Arreridj.

ملخص:

إن إنتاج بيتا لاكتامازات هو آلية المقاومة الأكثر شيوعاً، وتهدف دراستنا إلى الكشف عن انتشار البكتيريا المعوية المنتجة لإنزيم البيتا لاكتاماز واسع الطيف - في 39 عينة تم جمعها في ولاية برج بوعريريج من ثلاثة مصادر للعينات: كبد الدجاج، ومياه الصرف الصحي والعملة الجزائرية (العملات المعدنية والأوراق النقدية)، تم عزل 17 سلالة من البكتيريا المعوية التي تنتج إنزيم البيتا لاكتاماز واسع الطيف. في المختبر (70.83٪)، تم إجراء اختبار الحساسية على السلالات البكتيرية المعزولة ضد 11 مضاد حيوي، وذلك عن طريق اختبار نشر قرص المضاد الحيوي على الأجار. تشير النتائج إلى أن أعلى نسب مقاومة سُجّلت ضد السيفوتاكسيم (100٪)، السيفيبيم (100٪)، الكوتريموكسازول (91.66٪) والتتراسيكلين (75٪). تم تحديد سلالات البكتيريا المعوية المنتجة لإنزيم البيتا لاكتاماز واسع الطيف على أنها *E. coli* بنسبة 52.94٪ و *K. pneumoniae* 29.41٪.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المعوية ، إنزيم البيتا لاكتاماز واسع ، كبد الدجاج ، مياه الصرف الصحي ، العملات الجزائرية ، برج بوعريريج.