

---

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement  
Supérieure et de la Recherche Scientifique Centre Universitaire Belhadj  
Bouchaib d'Ain-Temouchent



Département des sciences de la nature et de la vie

## **Mémoire**

Pour l'obtention du Diplôme de Master en sciences biologiques Option : Microbiologie  
Appliquée

Présenté par :  
Mlle KEBAILI Asmaa  
Mme AZMANI Imene

---

# **Anitibiorésistance des entérobactéries d'origine aviaire**

---

Encadrant:  
Mme AHMED AMMAR. Y  
Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu le 20/06/2019

Devant le jury composé de :

Président: Mme MOGHTIT Fatima zohra (M.C.B)

C.U.B.B.A.T.

Examineur: Mme LACHACHI Meriem (M.C.B)

C.U.B.B.A.T.

Encadrant : Mme. AHMED AMMAR Yamina

C.U.B.B.A.T

---

## **Remerciements**

*Nous tenons à remercier le Dieu tout puissant qui nous a accordé santé et courage pour mener ce travail jusqu'à son terme .*

*Nous exprimons nos vifs remerciement a notre encadreur «Mme Ouadah Yamina” pour avoir accepté de diriger ce travail ,pour ses conseils,son aide ,ses suggestions sur la redaction de ce memoire ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de cette etude .Pour sa patience ,sa gentillesse ,et son esprit responsable . Nous aimerons manifester toute notre reconnaissance la plus profonde à tous les membres du jury qui ont bien voulu accepter d'examiner ce travail .*

*Nous adressons aussi toute notre gratittude à l'équipe de laboratoire de bacteriologie au niveau de l'hopital BERBIE ABDELKADER à Hammam Bouhdjar (Mr Cheref Afroul sid Ahmed ,MmeBousbaha Fatiha )et Mme Zahra de laboratoire d'hygiène qui n'ont pas hésité a nous guider , on remercie aussi le personnel de l'abattoir ,sans oublier la grande famille de biologie : enseignants ,étudiant ,administrateurs et techniciens .*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail a mes chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leur encourage et leur soutien tout le long de mes études, que Dieu les bénisse.*

*A mes sœurs et mon frère*

*A toute ma famille*

*A tous mes amis (es).*

*A tous ceux dont l'amitié sincère et agreeable*

*(Asmaa ,Leila )*

*A mon binome Imene et toute sa famille*

*A tous mes professeures*

*A toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

*Asmaa*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail a*

*A mes chers parents,*

*pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et  
leurs*

*prières tout au long de mes études, que dieu les gardent et bénissent*

*A ma chères sœurs Esma et Meriem pour leurs encouragements  
permanents, et leur soutien moral, et leur petits anges Amira ,Mouhmed  
et Soundouce*

*A mon adorables frère Amine,*

*A mon rayon de soleil Wassim*

*A mon chère marie salah edine pour sa compréhension et son soutien,*

*A toute ma belle famille,*

*A ma chère binome Asmaa*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et le fruit de votre  
soutien infailible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

***Imene***

## Table des matières

**Remercîments**

**Dédicaces**

**Table des matières**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction**.....01

### **1<sup>er</sup> partie synthèse bibliographique**

<b>I. L'aviiculture en Algérie :</b> .....	02
1. Historique.....	02
2. Évolution.....	02
3. Les contraintes de l'aviiculture.....	03
<b>II. Les entérobactéries :</b> .....	05
1. Définition .....	05
2. Classification .....	05
3. Caractères bactériologiques .....	07
4. Ecologies .....	09
5. les infections dues aux entérobactéries.....	09
5.1. Les infections touchant l'espèce aviaire.....	09
5.2. Les infections chez l'homme .....	10
<b>III. Antibiorésistance :</b> .....	12
1. <b>Antibiotique :</b> .....	12
1.1.Définition.....	12
1.2.Mécanismesd'action.....	12
1.3.Les antibiotiques utilisés en espèce aviaire(Algerie) .....	13
<b>2. Antibioresistance</b> .....	14
2.1.Définition.....	14
2.2. Types de résistance aux antibiotiques .....	14
2.3.Méthodes d'étude de l'antibiorésistance.....	16
2.4.Etat de l'antibiorésistance dans le monde.....	17
2.5.L'impact de l'antibiorésistance dans le monde.....	18

## 2<sup>ème</sup> partie : matériels et méthodes

<b>I. Lieu et durée del'étude</b> .....	20
<b>II. Milieux de culture, produits et matériels de laboratoire</b> .....	20
<b>III. Méthodes</b> .....	21
1. Prélèvement.....	21
2. Isolement et purification.....	21
3. Identification des bactéries.....	21
4. L'antibiogramme.....	26

## 3<sup>ème</sup> partie résultats et discussion

<b>I. Bacteriologie</b> .....	29
1. Identification bactériologique des souches isolées .....	29
2. Répartition des souches.....	32
<b>II. Antibiorésistance</b> :.....	33
1. Fréquences d'antibiorésistance des entérobactérie.....	34
2. Fréquences d'antibiorésistance des souches isolées.....	37
3. Fréquences des résistances intermédiaires.....	40
4. Fréquences de multirésistance des souches isolées.....	40
5. Fréquences de la multirésistance des isolats selon les Patterns.....	42
<b>Conclusion</b> .....	43
<b>Références bibliographiques</b> .....	44

**Annexes**

**Résumé**

## Liste des abréviations

ADN: Acide Désoxyribonucléique .  
ADH : L'arginine dihydrolase.  
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.  
AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique .  
API20E: Appareillage et Procédé d'Identification .  
APEC : *Esherichia coli* aviaires pathogène.  
ATB :Antibiogramme  
C: Chloramphenico  
ENR : Enrofloxacine  
*E coli*: *Esherichia coli*  
FAO : Food and Agriculture Organization  
GEL: Gélatinase .  
GLU : Glucose.  
GN : Gentamicine  
H2S : Sulfure d'hydrogène.  
I: Intermediaire .  
ICMSF : International commission on microbiological specifications for foods  
IND : Indole .  
K : Antigène capsulaire.  
LAC : Lactose.  
LDC : La lysine décarboxylase  
LPS : lipopolysaccharide  
MADR : Ministere de L'Agriculture et Du Développement Rural  
MAN: Mannitol.  
mcg/disc : microgramme par disque.  
Mm : milimètre  
ND : Non déterminer  
ODC : L'ornithine décarboxylase  
OMS: Organisation Mondiale de la Sante  
ONPG :Ortho-Nitrophényl-  $\beta$ -Galactoside  
PCR : polymerase chain reaction.  
R :Résistante .  
S : Sensible.  
S : *Salmonella*.  
SAC: Saccharose.  
SFM : Société Française de Microbiologie  
SXT: Trimetoprim sulphamethoxazole  
TE : Tétracycline  
TSI: Triple sugar Iron agar.  
URE : Urease .  
Y : *yersinia*.  
(+) :Resultat positif.  
(-) :Resultat negatif.  
°C : degré Celsius.  
%: pourcent.

## Liste des figures

N°	Le titre	La page
01	Structure et aspect microscopique des <i>Enterobacteriaceae</i>	08
02	Les mécanisme d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne	12
03	Mecanismes de résistance d'une bactérie aux antibiotiques	14
04	Mécanismes de transfert des résistances entre bactéries	16
05	Les tests biochimiques utilisés	24
06	Inoculation de la galerie API 20	25
07	La galerie API 20 E utilisées (avant inoculation )	25
08	Antibiogramme par diffusion des disques	27
09	Aspect des differentes colonies sur Mac conkey	29
10	<i>proteus</i> sur Hektoen	29
11	<i>Enterobacter</i> sur Hektoen	29
12	<i>E coli</i> sur Hektoen	29
13	<i>klebsiella</i> sur Hektoen	29
14	Observation microscopique( coloration de Gram) des enterobacteries	30
15	Résultat catalase des enterobacteries	30
16	Resultat du test oxydase des entérobacteries	30
17	Résultat d'identification biochimique de <i>klebsiella Pneumoniae</i>	30
18	Résultat d'identification biochimique de <i>E coli</i>	31
19	Résultat d'identification biochimique de <i>Proteus mirabilis</i>	31
20	Résultat de la galerie API 20 E de la souche de E coli	31
21	Répartition des enterobacteries	32
22	ATB de <i>proteus pennerii</i>	33
23	ATB de <i>E coli</i>	33
24	ATB de <i>Enterobacter cloacea</i>	34
25	ATB de <i>Citrobacter koeri</i>	34
26	Fréquences d'antibioresistance des isolats d'enterobacteries	34
27	Fréquences des résistances intermediaires aux antibiotiques des isolats d'enterobacteries	40



## Liste des tableaux

N°	Le titre	La page
01	Classification des entérobactéries	05
02	Entérobactéries courantes et rares	06
03	Antibiotiques utilisés en élevage aviaire en Algérie	13
04	Origines et âges des sujets autopsiés	20
05	Les tests biochimique utilisés	23
06	Les antibiotiques utiliser dans notre étude	27
07	Fréquences d'antibiorésistances des entérobacteries dans le monde	35
08	Fréquence d'antibiorésistances des souches isolées	34
09	Fréquences de multirésistance des souches isolées	41
10	Fréquences de la multirésistance des isolats selon les Patterns	42

# *Introduction*

### Introduction :

L'aviculture joue un rôle dans le développement de nombreuses rations tant pour des raisons nutritionnelles qu'économiques. Ces élevages assurent la production des œufs et la viande de volaille dont la consommation de cette dernière augmente de plus en plus partout dans le monde, du fait du coût de la production relativement faible, de taux de croissance rapide, de la valeur nutritive de la viande et de l'introduction de nombreux nouveaux produits transformés. Elle constitue un maillon essentiel du système de production animale.

Cependant cette filière connaît des difficultés qui freinent son développement, il s'agit également de problèmes pathologiques, les plus fréquents sont les maladies infectieuses qui présentent une menace majeure pour la santé humaine et animale et une cause importante de morbidité et de mortalité. (Guarda Bassi et *al.*,2008).

Les infections due aux entérobactéries chez la volaille sont connues à l'échelle mondiale, elles sont responsables d'énormes pertes économiques dans le secteur avicole et constituent l'une des principales causes de saisie au niveau des abattoirs (Barnes et al, 2003).Elles sont transmises par les aliments ou les eaux contaminées où elles sont la principale cause des diarrhées (Yahia, 2013).

Cette situation a poussé les éleveurs à l'usage abusif et erroné d'antibiotiques dans la conduite sanitaire de leurs élevages sans avoir conscience qu'ils participent à l'émergence de bactéries résistantes, voire multirésistantes qui peuvent entraîner des risques sérieux pour la santé humaine. (Hammoudi .A,2009)

L'antibioresistance est un réel problème en médecine vétérinaire avec un impact majeur en terme de santé publique (Hafed .Z et al ,2016). Les données expérimentales, épidémiologiques et moléculaires indiquent cependant un rapport entre l'utilisation des antimicrobiens et l'émergence de souches bactériennes résistantes chez les animaux, puis leur propagation à l'homme.,(Moritz van Vuuren,2001).

Dans le but d'avoir de nouvelles données épidémiologiques concernant l'antibiorésistance des entérobactéries d'origine aviaire dans la région d'Ain Temouchent nous avons tenté de déterminer le profil de résistance d'un certain nombre de souches isolées ,identifiée ,vis-à-vis une gamme d'antibiotiques.

*Synthèse  
bibliographique*

### I. L'aviculture en Algérie :

#### 1. Historique :

Au lendemain de l'indépendance (1962), la production avicole dans sa quasi-totalité se reposait essentiellement sur l'élevage familial et quelques exploitations et unités de petite envergure. L'industrialisation des élevages avicoles en Algérie s'est imposée alors comme l'unique solution rapide et efficace (kirouani.L,2015) .Induite par l'accroissement des élevages de reproducteurs, de l'industrie d'accoupage, des fabricants d'aliments ,des unités d'abattage et de transformation.(Alloui .N,2011).

Sur le plan historique, nous distinguons trois périodes différentes de point de vue organisationnel:

1) La période 1969-1979 qui constitue l'amorce du programme de développement des productions animales, dont l'aviculture.

2) La période 1980-1984 qui a vu la mise en place d'un programme spécial pour l'aviculture, le "Plan avicole" visant une réorganisation du secteur avicole.

3) La période en cours 1985-1989 qui se situe dans le cadre du 2ème plan quinquennal, constitue une continuité du plan précédent avec cependant une augmentation des objectifs de consommation :

- Viande blanche : 10 kg/an

- Œufs de consommation : 120 œufs/an. (Fenardji .F,1990).

#### 2. Évolution:

A partir de l'année 1988, la filière avicole évolue dans un environnement en transition caractérisé par la mise en œuvre des réformes économiques dans le sens du passage d'une économie planifiée à une économie du marché. (Kaci et Cheriet, 2013)

En deux ans (1988-1990), l'augmentation de la production de poulets de chair et d'œufs de consommation a été spectaculaire. Il restera à supprimer ces importations dans la seconde partie du plan. (CIHEAM, 1990).

A partir de 1990, le rythme de développement de la production s'est atténué à cause de la levée du monopole étatique sur les importations et l'instauration de la vérité des prix (levée des subventions) (Ferrah, 1993). Cette époque a été marquée par de grande réalisation au niveau du secteur privé et l'arrêt quasi-total des investissements dans la filière du secteur public.

### **3. Les contraintes de l'aviculture:**

Il existe des contraintes ne permettent pas aux élevages d'atteindre le potentiel de production.

#### **3.1 Contraintes alimentaires :**

Au niveau des unités de production commerciale, les poules pondeuses et les poulets de chair ont des exigences élevées en protéines et en énergie et ne tolèrent pas une grande quantité de fibres dans leur alimentation.

La très grande variation de la qualité et la composition des aliments pour la volaille représentent la principale contrainte pour l'alimentation au sein des élevages avicoles. (Morad .Y, 2016).

#### **3.2 Contraintes liées aux bâtiments d'élevage :**

Le bâtiment est le local où les animaux s'abritent contre toute source de dérangement, c'est le local où l'animal trouve toutes les conditions de confort. Pour cette raison, il doit prendre en considération tous les facteurs internes et externes du bâtiment. (Katunda, 2006).

Pour les bâtiments d'élevage, très souvent et surtout pour le poulet de chair, les normes de construction et d'équipement ne sont pas respectées, d'où les mauvaises conditions d'ambiance et d'isolation. La méconnaissance des règles de biosécurité entraîne souvent la contamination des troupeaux par différents vecteurs, entraînant un fort taux de mortalité (Alloui N, 2011).

#### **3.3 Contraintes génétiques:**

Lorsque les fermiers envisagent de passer à un mode d'aviculture plus intensif, ils sont impatients d'acquérir des oiseaux plus performants.

Les races indigènes ou locales sont généralement élevées en systèmes de production familiaux. Les oiseaux sont habituellement sélectionnés pour leur robustesse, quelquefois pour la production de viande, mais non pour la production d'œufs. (E.B. Sonaiya et S.E. J. Swan ,2004).

Bien qu'aucune politique de sélection n'ait été entreprise pour que la poule locale puisse exprimer toutes ses potentialités, cette volaille est soupçonnée d'être très limitée dans sa capacité de production. Il s'avère donc que le patrimoine génétique de la souche locale permettra difficilement d'atteindre des poids élevés en élevage traditionnel.(Savane,1996)

### 3.4 Contraintes sanitaires et hygiéniques :

La volaille est très sensible aux flambées de maladies qui peuvent causer des pertes économiques irréversibles en aviculture. Il est extrêmement important que l'industrie de la volaille impose des mesures de biosécurité complète pour maintenir la sécurité dans les fermes contre les risques biologiques (virus, bactéries, champignons...etc.) et la protection et le contrôle des maladies des volailles (Alloui .N, 2014).

Pour éviter cela il est nécessaire d'appliquer :

- Vide sanitaire et désinfection (laver la totalité du bâtiment).
- Hygiène en cours d'élevage (Hygiène de la litière, de l'eau, de l'aliment)
- Prophylaxie médicale: C'est la prévention vaccinale, immunologique, chimique qui permet à l'individu de développer un système biologique de reconnaissance spécifique et de destruction des agents pathogènes (Didier, 1996).

## II. Les entérobactéries :

### 1 .Definition :

Les bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* sont très largement distribuées dans la nature et peuvent faire partie de la flore normale du tube digestif de l'homme et des animaux. Dans ce groupe de bactéries entériques figurent des bactéries pathogènes strictes comme *Salmonella* et *Shigella*, d'autres sont considérées comme opportunistes ou pathogènes occasionnels comme *Proteus* et *Klebsiella* et enfin des bactéries essentiellement saprophytes du tube digestif et qui dans certaines circonstances peuvent être responsables d'infections comme *Escherichia*. leur identification est basée surtout sur des tests cultureux, des caractères biochimiques et antigéniques. (Jean.F *et al* ,2007).

### 2. Classification :

Les entérobactéries constituent une famille hétérogène . Elle se compose d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces, (Avril et al,2000) ,leur subdivision est dans le tableau suivant :

Tableau 01 : classification des entérobactéries ( Boone et al,2001)

Rang taxonomique	Classification
Régne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

Les genres de cette famille sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives : *Escherichiae* , *Klebsielleae*, *Proteae*, *Yersinia*, *Erwiniae* (DELARRAS, 2010).



Tableau 02: Entérobactéries courantes et rares (Dellarras, 2010).

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

### 3. Caractères bactériologiques :

#### 3.1 .Caractères morphologiques et culturaux :

La plupart des bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* partagent les caractères bactériologiques suivants :

La figure 01 présente la structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae*

- Ce sont des bacilles à Gram négatif, ne formant pas de spores .
- Lorsqu'elles sont mobiles (*Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia pestis* sont immobiles), ces bactéries présentent une ciliature péritriche .
- Elles se développent aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose sur des milieux « ordinaires » (Janda et Abbott, 2006).
- La température optimale de croissance est généralement de 35 à 37 °C à l'exception des *Yersinia* (30 à 37 °C), des *Pantoea* et des *Erwinia* (27 à 30 °C).
- L'aspect général des colonies de ces bactéries sur gélose nutritive est florissant, colonie de 1 à 3 mm de diamètre généralement bombées, lisses et brillantes (excepté pour *Shigella*, *Yersinia*, et certaines espèces de *Salmonella*, *Proteus*).
- Le plus souvent, ces colonies sont opaques et blanchâtres, mais il en est de plus transparentes telles que les Salmonelles et celles présentant des pigments rouge et jaune respectivement chez les *Serratia* et les *Erwinia*.
- Les *Klebsiella* forment des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes (Denis et al, 2007)

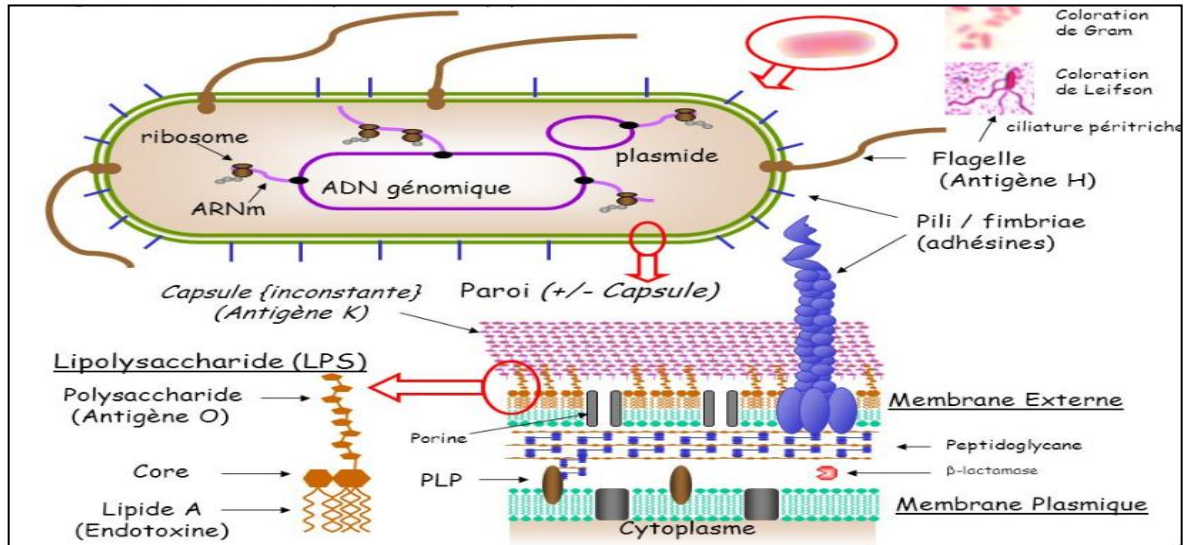


Figure 01 : Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae*. (Denis et al 2007)

### 3.2 Les caractères biochimiques :

- Elles utilisent le D-glucose et les sucres par fermentation plutôt que par oxydation souvent avec production de gaz .
- Les entérobactéries sont catalase-positives (à l'exception de *Shigella dysenteriae* sérotype 1) et oxydase-négatives .
- Elles réduisent les nitrates en nitrites (à l'exception de certaines souches d'*Erwinia* et de très rares mutants) (Janda et Abbott, 2006).

### 3.3 caractères antigéniques :

L'identification des entérobactéries se fait par l'identification biochimique, la détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont l'identification est certaine. Toute autre façon de faire ne peut qu'entraîner des erreurs du fait d'agglutinations croisées non spécifiques (avril et al, 2000) .Elle se base sur l'identification des 3 antigènes (O,H et K).

- Les antigènes O ou somatiques : Ces antigènes correspondent aux polysides fixés sur les LPS. Ils sont thermostables et résistent à l'alcool.
- Les antigènes H ou flagellaires : n'existent que chez les souches mobiles. Constitués de protéine spécifique dénommée flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.
- Les antigènes de surface : comprennent :

- Les antigènes K ou capsulaires : sont de nature polysaccharidique. Lors d'un sérotypage, chez les *Escherichia coli*, les *Shigella* ou chez certaines *Salmonella* et *Citrobacter*, ces antigènes masquent l'agglutination par les anticorps anti O qui peut être restituée après chauffage de la souche car ils sont détruits par ébullition.
- Les antigènes d'adhérence ou adhésines : sont de nature protéique, portés par des pilis communs (encore appelés fimbriae) (Carbonnelle B et al, 1987).

#### 4. Ecologie :

Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires retrouvées partout dans le sol, dans l'eau, dans certaines denrées alimentaires (Ruppé E., 2010) . On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux, mais la plupart des espèces qui composent cette famille sont des hôtes normaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et des animaux, pour cela elles sont nommées entérobactéries (Fauchère J. L et Avril J. L., 2002)

#### 5 . Les infections dues aux entérobactéries

##### 5.1 Les infections touchant l'espèce aviaire :

###### a) La colibacillose :

La colibacillose est une maladie infectieuse des oiseaux provoquée par *Escherichia coli*, qui est considérée en tant qu'une des principales causes de la morbidité et de la mortalité (Lutful-kabi, 2010).

Les colibacilloses sont fréquentes en pathologie aviaire. Entraînant de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir ,elles engendrent également des pertes économiques importantes . Les colibacilloses prennent des formes localisées ou bien générales, avec une voie d'entrée plutôt respiratoire . En revanche, il semble à ce jour que la plupart des colibacilles aviaires ne soient pas zoonotiques (Brugere-Picoux, 2015).

###### b) Salmonelloses

A l'exception de *Salmonella enteritica* sérotype Typhi et *S. enteritica* sérotype *Paratyphi A* et *S. enteritica* sérotype *Paratyphi C* qui sont spécifiques aux humains et dont le seul réservoir est l'homme, tous les autres sérotypes peuvent être considérés comme des espèces zoonotiques ou potentiellement zoonotiques (Alleyne et al., 2001)

Les volailles sont en général des porteurs sains (Rostagno et coll. 2006), et l'incidence technicoéconomique du portage en poulet de chair semble être minime, en fait, c'est le rôle des salmonelles dans les toxi-infections alimentaires collectives qui explique leur importance dans la filière. En effet beaucoup de sérovars (plus de 156 selon ICMSF, 1996), isolés des poules et des canards aux Etats Unis sont largement la source la plus importante des contaminations alimentaires. Certains sérovars particulièrement *Salmonella Enteritidis* et *Salmonella Typhimurium*, se sont avérés redoutables (ICMSF, 1996),

### 5.2 Les infections chez l'homme :

Les entérobactéries constituent une très vaste famille qui représente près des trois quarts des isolement d'un laboratoire de bactériologie médicales. les entérobactéries sont responsables de deux grands types de manifestation pathologiques : pathologie spécifique telle que la fièvre typhoïde avec *Salmonella typhi* ou d'une pathologies opportuniste notamment dans le cadre d'infections nosocomiales (Denis et al, 2007).

#### 5.2.1 Pathogénicité d' *Escherichia coli* :

a) Infections extra-intestinales : *E. coli* est responsable d'infections diverses.

- Infections urinaires : la majorité des infections urinaires sont due à *E. coli* de plus ces dernières sont dotées à leur surfaces de structures : les adhésines qui leur permettent d'adhérer spécifiquement aux épithéliums de l'appareil urinaires .
- Infections abdominales : ce sont des cholécystites, péritonites ou salpingites.
- Infections méningées : les méningites néonatales sont souvent graves (80% des souches possèdent l'antigène capsulaire K).
- Les bactériémies consécutives à une infection localisée peuvent évoluer vers un choc septique du à l'action de LPS ou endotoxine (Faucher et avril, 2002).

b) Infections intestinales :

L'existence de diarrhées à *E. coli* est connue depuis 1940. Ces diarrhées sont dues à des souches de sérotypes particuliers qui provoquent soit des cas sporadiques, soit des petites épidémies. Les différents syndromes cliniques sont dus à différentes souches d' *E. coli* (Avril et al, 1992).

### 5.2.2 Pathogénicité de *Salmonella* :

Ce sont d'abord les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues aux *S. typhi*, *S. paratyphi* A, B, ou C. Elles sont caractérisées par une bactériémie avec fièvre, des signes digestifs chez le nouveau-né ou le jeune enfant, d'autres sérotypes donnant des épidémies, comme *S. Panama* ou *S. Wien*, peuvent être responsables de formes septicémiques qui mettent en jeu le pronostic vital (Fauchere et avril, 2002).

### 5.2.3 Pathogénicité de *Shigella*

Le bacille de *Shigella* (*S. dysenteriae* sérotype 1) est l'agent des grandes épidémies historiques de dysenterie bacillaire. Le syndrome dysentérique est accompagné d'un syndrome infectieux sévère et de troubles neuropsychiques. Les autres sérotypes provoquent des colites infectieuses chez l'adulte et des gastroentérites chez l'enfant les *Shigella* provoquent des ulcérations de la muqueuse intestinale et une réaction inflammatoire. En conséquence, les selles sont sanglantes avec des leucocytes, des glaires et des fausses membranes. Douleurs abdominales, épreintes Les localisations extra-digestives sont peu fréquentes. Les moins rares sont les infections urinaires. On observe parfois des formes bactériémiques, des arthrites, des méningites (Fauchere et avril, 2002)

### III. Antibiorésistance :

#### 1. Antibiotique:

##### 1.1 Définition :

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire les micro-organismes (Yala et al., 2001).

##### 1.2 Mécanismes d'action:

L'antibiotique a cinq cibles principales: (Figure 02)

1. Action sur la paroi bactérienne : Blocage de l'assemblage des éléments protidiques et lipidiques de la paroi bactérienne .
2. Action sur la membrane cytoplasmique: S'insèrent entre les molécules de phospholipides et désorganisent la membrane.
3. Action sur la synthèse protéique :Perturbation de la lecture de l'information au niveau du ribosome (les protéines fabriquées ne peuvent pas être utilisées) et donc la bactérie ne peut ni vivre ni se développer .
4. **Action sur l'ADN:** Blocage d'ouverture d'ADN et empêcher son dédoublement .
5. Les anti-métabolites: c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries ,par exemple une bactérie a besoin d'éléments pour reconstituer son ADN. Si l'on apporte des substances qui ressemblent aux acides nucléiques nécessaires à la bactérie . ( Denis .S,2013).

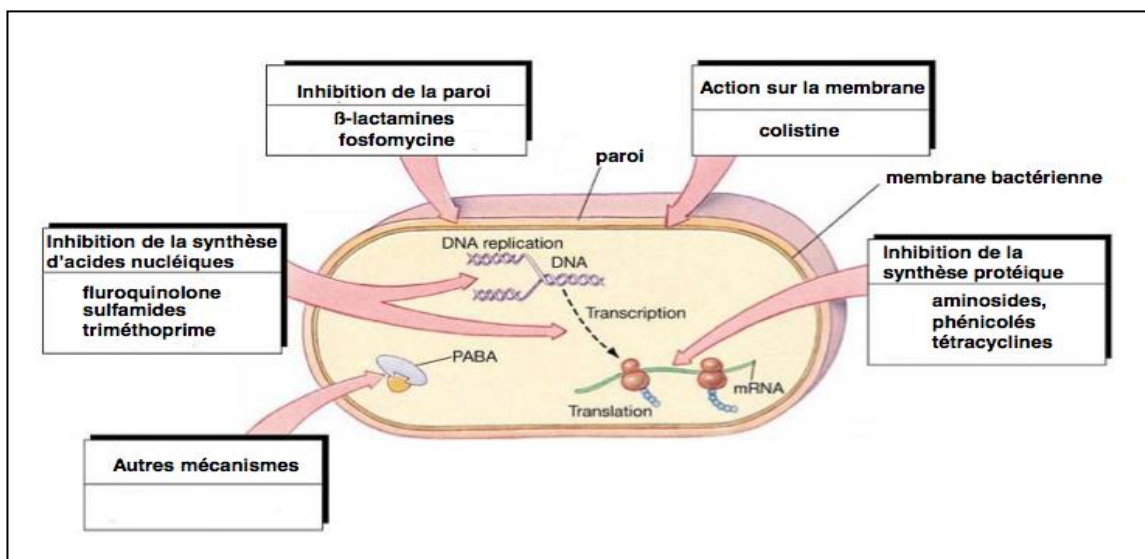


Figure 02: Les mécanismes d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne (Danièle Meunier, 2006)

## 1.3 Les antibiotiques utilisés en espèce aviaire (Algérie) :

Le tableau suivant résume les familles d'antibiotiques utilisées en espèce aviaire en Algérie .  
(M.A.D.R. 2004)

Tableau 3 : Antibiotiques utilisés en élevage aviaire en Algérie

Principe actif	Famille d' antibiotique	Délai d'attente (jours)	Indications
Ampicilline	$\beta$ -lactamines	26	Infections bactériennes causées par les Gram positif ou Gram négatif
Amoxicilline	$\beta$ -lactamines	ND	Germes sensibles à l' amoxicilline
Tylosine	Macrolides	3	Prévention et traitement du Mycoplasme
Spiramycine	Macrolides	10	MRC (maladies respiratoires chroniques)
Josamycine	Macrolides	4	prévention de MRC Prévention et traitement des mycoplasmes et infections par autres germes sensibles
Oxytétracycline	Tétracyclines	7	Germes sensibles à l' oxytétracyclines
Tétracycline	Tétracyclines	7	Omphalites, Staphylococcies Colibacilloses
Doxycycline	Tétracyclines	7	Mycoplasmoses MRC Colibacilloses Psateuriloses
Néomycine Oxytétracycline	Aminoglycosides + Tétracyclines	0	MRC Pasteurelloses Colibacilloses Salmonelloses Synovites infectieuses
Enrofloxacin	Fluoroquinolones	9	Prophylaxie des maladies infectieuses des volailles
Fluméquine	Fluoroquinolones	ND	affections à germes sensibles à la fluméquine
Triméthoprime Sulfatiazine	Sulfamides	12	Affections à germes sensibles aux triméthoprimes, sulfatiazines
Sulfadiméthoxine	Sulfonamides	6	Coccidioses, Staphylococcies
Colistine	Polypeptides	1	Entérites infectieuses Facteurs de croissance
Colistine	Polypeptides	21	Prévention et traitement des entérites et gastro- entérites.
Fluméquine	Fluoroquinolones	ND	Affections à germes sensibles à la fluméquine



## 2 .Antibiorésistance :

### 2.1 Définition :

Une souche bactérienne résiste à un antibiotique quand elle peut croître en présence d'une concentration plus élevée de cet antibiotique que la concentration tolérée par les autres bactéries de la même espèce , conduisant à une résistance clinique. (Peshkova, 2015).La figure (03) suivante présente les mécanismes d'antibiorésistance .

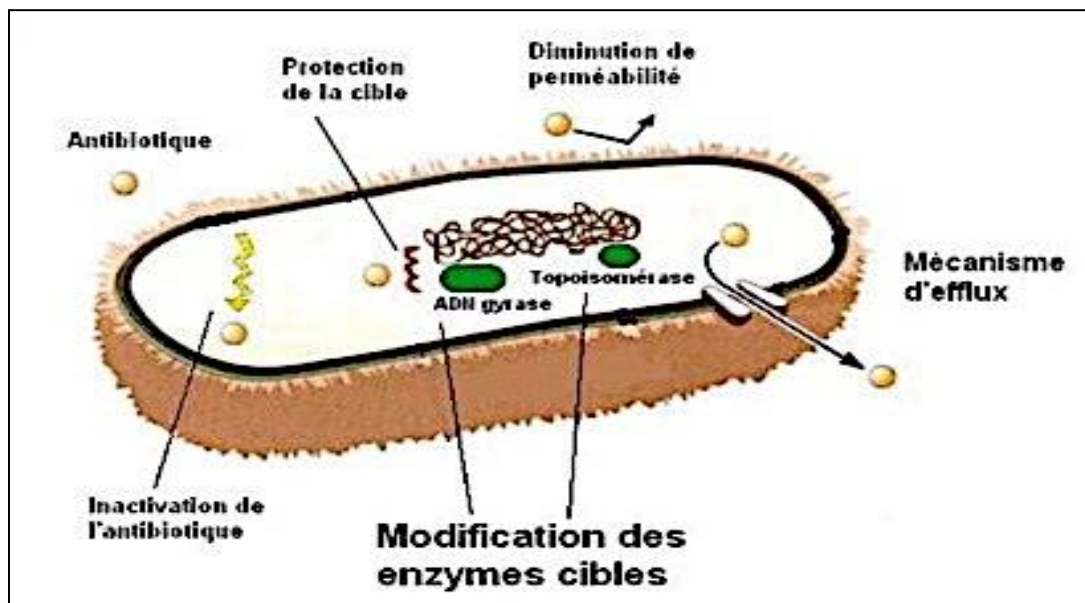


Figure 3 : Mécanismes de résistance d'une bactérie aux antibiotiques (Mérens. A ,2010)

### 2.2 Types de résistance aux antibiotiques:

#### 2.2.1 .Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes).( Lozniewski A et al,2010)

Pour la Société Française de Microbiologie (SFM), la résistance naturelle se traduit par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la concentration critique supérieure des tests de sensibilité pour l'antibiotique concerné . (Guérin-Faublée, 2010 ; Scott, 2009).

### 2.2.2. Résistance acquise :

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. (Yamashita SK et al ,2000). Les gènes de résistance peuvent être acquis par transformation de gènes étrangers provenant de chromosomes d'autres espèces ou être porté par des élément mobiles (transposons, plasmides et intégrons) (Vaubourdolle.M, 2007)

#### a) Résistance chromosomique:

Elle est due à une mutation spontanée, rare (fréquence de  $10^{-6}$  à  $10^{-9}$ ), stable et transmissible uniquement de façon verticale. L'antibiotique n'est pas l'agent mutagène, il sélectionne seulement les mutants devenus résistants. Elle n'intéresse qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotique à la fois. (Rowe-Magnus, D. et al ,2001).

#### b) Résistance par des éléments mobiles (extrachromosomique) :

- **Plasmides** : le support génétique de la résistance est un ADN additionnel porteur d'un ou plusieurs gènes de résistance, le plus souvent en position cytoplasmique. (Nait Bourdou .B ,2009).

Les plasmides permettent aux bactéries d'acquérir la résistance à un ou plusieurs antibiotiques d'emblée ; cette résistance est transférable de bactérie à bactérie de la même espèce mais aussi d'espèces voire de genres différents (Guérineau M,2019)

- **Transposons**: gènes de résistance localisés sur un ADN « mobile » ayant une organisation particulière. Le transposon peut transposer d'un plasmide à un chromosome ou vice versa. Cet ADN additionnel augmente la taille du génome .Ils permettent dissémination des gènes de résistance (Nait Bourdou.B,2009).
- **Les intégrons** : sont des systèmes de capture de plasmides, de transposons ou de cassettes géniques. Le matériel génétique s'insère entre deux parties stables de l'intégrons. Plusieurs déterminants génétiques de résistances peuvent s'intégrer à ce système créant alors des îlots de résistances.(Mateo C,2016) (Figure 04)

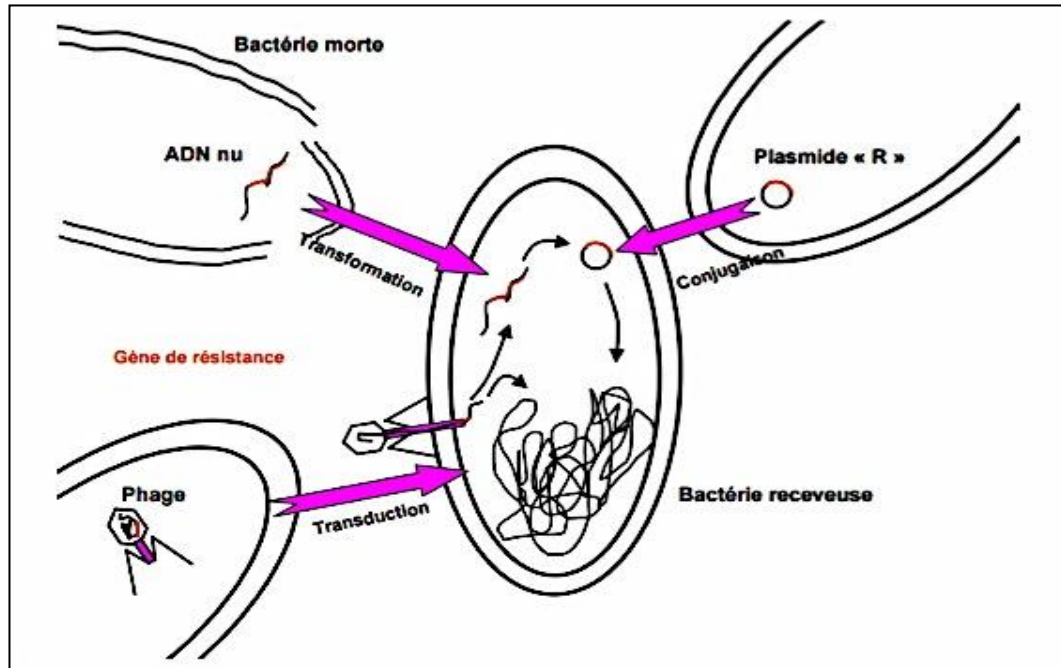


Figure 4 : Mécanismes de transfert des résistances entre bactéries (AFSSA, 2006)

### 2.3.Méthodes d'étude de l'antibiorésistance :

Il existe plusieurs techniques pour mesurer la réponse d'une souche bactérienne face à un ou plusieurs antibiotiques :

**Antibiogramme :** Contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance, ce qui signifie que la molécule sera probablement active au sens thérapeutique ou le traitement sera un échec.

La méthode des disques ne fournit que des informations qualitatives (ou semi-quantitatives, grâce aux courbes de concordance, ) sur la sensibilité ou la résistance d'une souche .Il existe des méthodes quantitatives permettant de mesurer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) d'un antibiotique vis-à-vis d'une souche .(Tony Hart et al, 1997)

**CMI :**Concentration Minimale Inhibitrice =la plus petite concentration d'antibiotique capable d'inhiber toute culture visible de la souche étudiée (effet bactériostatique de l'antibiotique )

**CMB :**Concentration Minimale bactéricide = la plus petite concentration d'antibiotique laissant subsister un nombre de bactéries survivantes <0,01% (effet bactéricide de l'antibiotique ).( Claire .D, 2016).

E-test : C'est une technique de diffusion en milieu gélosé permettant de mesurer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique ,utile pour guider l'antibiothérapie en déterminant la sensibilité des germes aux antibiotiques, détectant les mécanismes de résistance, les synergies ou les antagonismes entre deux antibiotiques,(mesure quantitative de la sensibilité).( M.-L. Joly-Guillou,2006).

Tests génotypiques (PCR) : sont fondés sur les méthodes d'amplification d'un segment d'ADN portant sur une partie ou la totalité du gène de résistance. Il peut également s'agir d'une partie intrinsèque de gène bactérien au sein du quel peuvent être repérées des mutations de résistance. Les techniques phénotypiques peuvent alors surestimer ou sous-estimer la fréquence ou le niveau de résistance.(Tang.YW et al ,1997)

### 2.4.Etat de l'antibioresistance dans le monde :

La résistance aux antibiotiques est considérée au niveau mondial comme un problème majeur en terme de santé humaine et animale.l'A.F.S.S.A (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) a étudié l'apparition des bactéries résistantes aux antibiotiques, les résultats obtenus incriminent leur utilisation en médecine vétérinaire et en alimentation animale.

Dans une étude effectuée au Nigeria (2012) par Olufemi E. Ojo et al, sur les propriétés antimicrobiennes de 184 isolats d'entérobactéries commensales (dont 104 *Escherichia coli* , 44 *Klebsiella* spp, 20 *Salmonella* spp. et 16 *Enterobacter aerogenes* ) isolées à partir de poulets en liberté , 89,7% étaient résistants à l'ampicilline, (73,9%) au chloramphénicol (33,2%) ciprofloxacine , (60,3%), enrofloxacin (70,7%) néomycine, (45,7%) nifloxacine (78,8%) streptomycine et (73,4%) pour tétracycline .

Une étude réalisée à l'ouest algérien par Ahmed Ammar .Y et al (2017) sur l'antibiorésistance des enterobacteries d'origine aviaire montre que la majorité des isolats étaient résistants aux bêtalactamines, quinolones, tétracycline et au triméthoprim /sulfaméthoxazole. Les souches d'*Escherichia coli* présentent des niveaux de résistance très élevés: acide nalidixique (84%), flumequine ( 94%), enrofloxacin (86%) , tétracycline (92%), triméthoprim / sulfaméthoxazole (91%), amoxicilline (92%) , céfalotine (80%). *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumonia* (respectivement) ont montré une résistance à l'acide nalidixique (81, 77, 100%), au flumequine (81, 84, 100%), à l'enrofloxacin (77, 53, 77%), à la tétracycline (100, 84), Triméthoprim sulfaméthoxazole (74, 69, 77%), amoxicilline (62, 77, 100%) et ceftiofur (44, 61, 55%).

Au Pakistan (Asghar A. Kamboh et al ,2018) une enquête visait à déterminer les différents profils de résistance aux antimicrobiens des bactéries entériques isolées à partir d'échantillons de foie de poulets de chair et de poulets de basse-cour.

Les isolats d'enterobacteries provenant de poulets de chair ont démontré un niveau plus élevé de résistance à l'amoxicilline (93,94%) et à l'ampicilline (93,51%), suivis de la doxycycline (84,42%), l'oxytétracycline (80,09%), gentamicine (78,79%), rofloxacine et de ciprofloxacine (77,06% chacune), flumequine (74,46%), augmentin (65,37%), chloramphénicol (64,07%), norfloxacine (59,31%), ceftriaxone (44,16%), céfotaxime (41,13%) et céftazidime (33,33%).

Une étude de Rahmatallah. N et al , réalisée en 2016 au Maroc (région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer) sur des souches d' *E. coli* (O1, O2 et O78 ) d'origine aviaire , a permis de distinguer entre antibiotiques connaissant de forts taux de résistance à savoir: l'oxytétracycline (100 %), l'amoxicilline (90,9 %), trimethoprim + sulfaméthoxazole (82,2%), l'enrofloxacin (75,9 %) et le florfenicol (61,5 %) et des molécules à faibles taux de résistance comme la gentamicine (24,8 %), la fosfomycine à (16,1 %) et la colistine (2,94 %).

La multi-résistance reste très élevée et alarmante, les travaux de Rahmatallah . N et al en 2016 montrent que 97 % des souches étaient résistantes à trois molécules d'antibactériens et 55 % à cinq antibiotiques .

Dans l'étude de Ahmed Ammar .Y et al (2017) toutes les souches étaient résistantes à au moins deux (2) antibiotiques et 4% pour 11 antibiotiques différents . Asghar A. Kamboh et al en 2018 ont révélé que la prévalence des enterobacteries multirésistantes est élevée chez les poulets de chair du commerce avec une fréquence de 66,99% pour *E coli* , 69,32% pour *sellmonella* et 63,33% pour *klebsiella* ,et l'étude de Arifatun Nahar et al en 2014 a Bangladesh sur la multiresistance de *Proteus Mirabilis* isolé des excréments de poulet montre que 83% des isolats étaient résistants a 3 antibiotiques .

### 2.5. L'impact de l'antibiorésistance dans le monde :

La résistance aux antibiotiques représente une menace de plus en plus sérieuse pour la santé mondiale et le développement humain.

L'OMS, la FAO et l'organisation mondiale de la santé animale lancent un appel pour un usage responsable des antibiotiques chez l'homme et chez l'animal en vue d'endiguer l'émergence de la résistance aux antibiotiques.(OMS ,2017).

Cette résistance peut se transmettre entre les humains, entre les animaux, ainsi qu'entre les humains, les animaux et l'environnement.

Les éleveurs de volailles ainsi que le personnel d'abattoir représentent des populations susceptibles d'héberger les mêmes phénotypes de résistance que les animaux. Aux Pays-Bas, l'analyse d'échantillons fécaux montre que la même résistance est retrouvée chez les poulets de chair, leurs éleveurs ainsi que le personnel d'abattoir, le même constat est réalisé dans la filière dinde (Van den Bogaard et al., 2001). L'environnement des élevages représente également un réservoir de résistance : eaux de surface à proximité des poulaillers et sols (BLAAK et al., 2015). Les infections causées par des bactéries résistantes peuvent être difficiles et parfois impossibles à guérir, et elles sont en augmentation. Entre-temps, les activités de recherche visant la mise au point d'antibiotiques efficaces sont particulièrement longues et coûteuses, et la résistance se développe souvent rapidement après la commercialisation de nouveaux médicaments.( OMS ,2011)

Les conséquences de l'inefficacité des antibiotiques sont multiples :

- Des complications de la maladie .
- Des consultations médicales supplémentaires .
- Une utilisation de médicaments plus puissante et plus chers pour arriver à soigner .
- Des risques plus élevés lors d'interventions médicales, pour les quelles les antibiotiques sont indispensables pour réduire les risques infectieux
- Des décès causés par des infections bactériennes jusqu'alors faciles à traiter.

autre le coût en pertes humaines, le coût financier des soins pour la société s'élèverait à plus de 1,5 milliards d'euros en Europe et plus de 55 milliards de dollars aux Etats-Unis. Dans le monde entier, l'antibiorésistance pourrait coûter plus de 100 000 milliards de dollars.

(Ministère des Solidarités et de la Santé ,2018).

Ghebreyesus, Directeur général de l'OMS. «Si nous ne nous attaquons pas à cette menace par une puissante action coordonnée, la résistance aux antimicrobiens nous ramènera à ce temps où les gens craignaient les infections les plus courantes et risquaient leur vie pour des interventions chirurgicales mineures.»

Directeur général de la FAO, qui ajoute: «Les antimicrobiens à usage vétérinaire sont un outil crucial pour la santé et le bien-être animal et une production alimentaire sûre, mais ils ne sont en aucun cas le seul disponible.»(OMS,2017).

# *Matériels et Méthodes*

## I. Lieu et durée de l'étude:

Notre travail s'est porté sur l'isolement, l'identification et la détermination de l'antibiorésistance de quelques espèces d'entérobactéries isolées à partir de poulets de chair âgés de 40-50 jours et provenant de différentes régions de la wilaya de Ain Temouchent. (Tableau 04).

Tableau 04: Origines et âges des sujets autopsiés

Nombre de sujets	Age (jours )	Régions
15 poulets	40 – 50 jrs	-Ain el Beida -Ain larbaa -El meida (Aures) -Sidi Boumedien

Les prélèvements et les analyses bactériologiques ont été effectués au niveau de l'abattoir "Baraka" et le laboratoire de bactériologie de l'hôpital BERBIE Abdelkader, respectivement, situés à Hammam Bouhdjar (Wilaya de Ain Temouchent).

Cette étude a été réalisée durant la période s'étalant du 06 mars au 06 mai 2019.

## II. Milieux de culture, produits et matériels de laboratoire :

### 1. Matériels

- Microscope optique.
- Bec bunsen.
- Pipettes pasteur.
- Anse de platine.
- Boîtes de pétri.
- Lames et lamelles.
- Étuve.
- Écouvillons.

### 2. Milieux de culture

- Mac conkey
- Hektoen
- Mueller Hinton.
- galerie API 20 E .
- TSI (Triple sugar Iron agar)
- Mannitol mobilité
- Urée indole (Urease)



-Citrate de Simmons

-ODC ,LDC et ADH (L'ornithine décarboxylase , La lysine décarboxylase, L'arginine dihydrolase).

-ONPG (Ortho-Nitrophényl-  $\beta$ -Galactoside)

### 3. Réactifs et colorants:

-Violet de gentiane.

-Fuschine de Ziehl.

- Lugol .

-Réactif de kovax.

-Huile de paraffine

### 4. Produits utilisés :

-Huile à immersion .

-Eau oxygénée 10 volumes .

-Alcool 70°.

-Eau physiologique 0,9% .

## III. Méthodes :

### 1. Prélèvement :

Il s'agissait dans un premier temps de prélever des organes internes (foie, rate, intestin et cœur) sur des poulets fraîchement autopsiés, en suite les déposer dans des boîtes de Pétri stériles, et les transporter au laboratoire.

### 2. Isolement et purification :

La surface de l'organe a été flambée avant d'introduire un écouvillon à l'intérieur, en suite l'ensemencement a été fait par des stries bien serrées sur une gélose Mac conkey .

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

### 3. Identification des bactéries :

#### 3.1. Étude Macroscopique :

L'identification des germes est basée sur l'observation de l'aspect macroscopique des colonies obtenues à partir des différents milieu d'isolement (la taille ,la forme ,la couleur ,la consistance ,l'opacité ,l'allure du contour ).(Delarras,2007).

### 3.2. Étude microscopique :

L'observation microscopique consiste à observer les cellules bactériennes après une coloration de Gram qui permet de connaître la forme, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées.

Technique :

- Réaliser un frottis :fixer la préparation à la flamme, sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame.
- Immerger les lames dans la solution de Cristal Violet pendant 1 min.
- Lavage à l'eau en transvasant les lames.
- Immerger les lames dans du Lugol pendant 1 min en les agitant, ensuite lavage à l'eau.
- Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée ou en immergeant les lames pendant une dizaine de seconds dans le décolorant ,suivie d'un lavage
- Contre colorer avec la solution de safranine diluée pendant 20 à 30 secondes, lavage à l'eau et séchage .
- Observer à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile. (Pierson .A ;2008)

### 3.3. Identification biochimique :

L'identification biochimique a été réalisée par des tests biochimiques et la galerie API 20 E

i. Identification par galerie classique :

Le tableau suivant représente les tests biochimiques utilisés dans notre étude

Tableau 5: Les tests biochimiques utilisés

Test	Technique	Caractères recherché	Lecture
Test TSI:	A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, ensemercer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées. A l'aide de la pipette pasteur . Incubation 37°C pendant 24 h.	Production du sulfure d'hydrogène (H <sub>2</sub> S) et de gaz, et la fermentation de trois sucres (glucose, lactose saccharose	<u>Fermentation de glucose:</u> -Culot rouge : glucose non fermenté -Culot jaune : glucose fermenté <u>Fermentation du lactose et/ou du saccharose</u> -Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés -Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s) <u>Production de gaz</u> -Apparition de gaz dans le culot.

			<p><u>Formation d'H<sub>2</sub>S</u></p> <p>-Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.</p>
Citrate de Simmons	<p>Ensemencer la pente du milieu au citrate en stries longitudinales et parallèles à l'aide d'une pipette, préalablement stérilisée à la flamme, à partir d'une colonie isolée prélevée sur gélose nutritive.</p> <p>Incubation 37°C pendant 24 h.</p>	Utilisation de citrate	<p>-Lorsque le citrate est utilisé, le milieu vire au bleu: Citrate +</p> <p>-Lorsque le citrate n'est pas utilisé, le milieu reste vert .</p>
Mannitol mobilité	<p>Ensemencement par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur chargées d'une suspension bactérienne, incubation à 37°C pendant 24 h.</p>	la fermentation du mannitol ainsi que la mobilité de la souche	<p><u>la fermentation du Mannitol :</u></p> <p>-Milieu rouge, pas de fermentation du mannitol : mannitol –.</p> <p>-Milieu jaune, fermentation du mannitol : mannitol +.</p> <p>Fermentation du mannitol avec production de gaz : mannitol + avec gaz.</p> <p><u>La mobilité :</u></p> <p>-Pas de diffusion autour de la piqûre : bactéries immobiles.</p> <p>-Diffusion autour de la piqûre : bactérie mobiles.</p>
Urée indole	<p>Ce milieu est inoculé avec quelques gouttes de suspension bactérienne, incubation à 37°C pendant 24 h. après incubation nous l'avons ajouté 2 à 3 gouttes de réactifs de kovacs. la lecture est immédiate.</p>	Recherche de l'uréase et l'indole.	<p>-Coloration rouge du milieu: uréase +</p> <p>-pas de virage de couleur en rouge : uréase -</p> <p>-Formation d'un anneau rouge indole +</p> <p>-Absence de coloration rouge : indole -</p>
ONPG	<p>Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée ; ajouter avec une pince flambé un disque imprégné d'ONPG.</p> <p>Incuber à 37°C et lire après 30 min jusqu'à 24H.</p>	La recherche d'une enzyme (β-Galactosidas)	<p>-Virage du milieu vers le jaune : ONPG +</p> <p>- Milieu incolore : ONPG -</p>

LDC ODC ADH	Ensemencer chaque milieu avec quelques gouttes de suspension de la culture à étudier recouvrir d'huile de vaseline ,fermer le tube entièrement afin de créer une anaérobiose relative et incubé 24h à 37°C.	La recherche des décarboxylases	-Le milieu deviendra jaune : LDC, ODC, ADH – -Le milieu restera violet : LDC, ODC ,ADH +
Catalase	Sur une lame et à l'aide d'une pipette Pasteur, on dépose une colonie bactérienne à la quelle on ajoute de l' H2O2 (à 10 volumes) .la lecture est immédiate	La recherche de la catalase	-Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase + - Pas de bulles : catalase –
Oxydase	Déposer, sur une lame, un disque « Ox » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée. Prélever une partie de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.	La recherche de l'oxydase	-Coloration violette du disques d'oxydase révèle un résultat positif oxydase + -Disque incolore oxydase -



Figure 5: Les tests biochimiques utilisés

### 3.3.2 Identification par la galerie API :

Principe:

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

Technique:

- La préparation de la suspension bactérienne consiste en transfert en condition aseptique d'une colonie bien isolée vers un tube qui contient 1 à 2 ml d'eau physiologique stérile.
- 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 les cupules),
  - pour les tests : ADH, LDC, ODC, H2S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.(figure 06).
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 18-24 heures. (bioMérieux SA ,2010 )

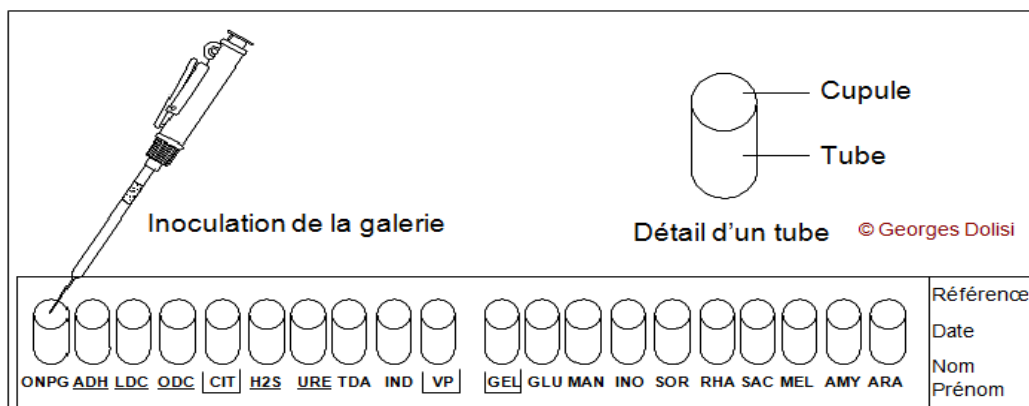


Figure 06 : Inoculation de la galerie API 20 E



Figure 07 : La galerie API 20 E utilisés (avant inoculation )

### Lecture:

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (Tableau 05) et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique (Annexe 12) ou d'un logiciel d'identification. (bioMérieux SA ,2010 ) .

### 4 .L'antibiogramme :

La sensibilité aux différents antibiotiques a été étudiée par la diffusion en gélose Mueller Hinton, selon la méthode de disques sur boîte de pétri stériles selon les normes éditées par Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale.

### Principe :

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode diffusion en gélose Mueller Hinton. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

### Technique:

- A partir d'une culture pure de 18-24 h sur milieu gélosé approprié racler a l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse dans 5à10 ml d'eau physiologique stérile 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne et tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélose sèche de haut en bas, en stries serrées .Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois ,sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui même .Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose .
- Dans le cas ou l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri , il faut recharger l'écouvillon a chaque fois .
- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disque d'antibiotiques sur une boîte de 90mm. (figure 08)

- Presser chaque disque d'antibiotique a l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.
- Incubation 37°C pendant 24H (Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale ,2014)
- Les antibiotiques utilisés figurent dans le tableau 06.

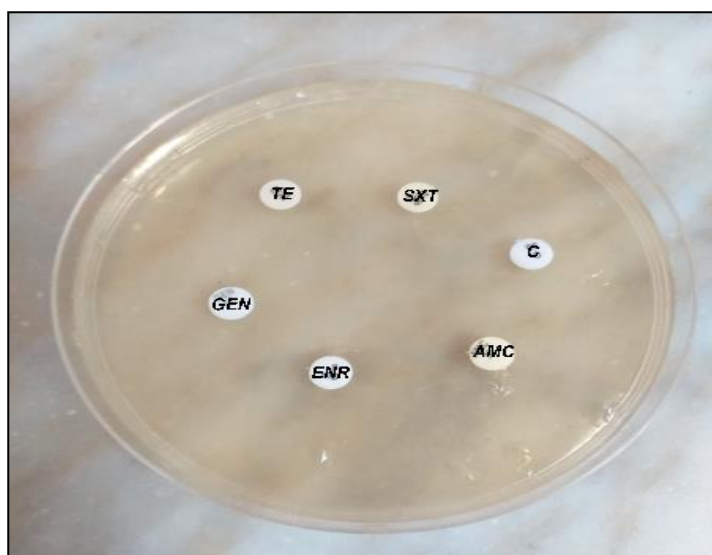


Figure 8: Antibiogramme par diffusion des disques

Tableau 06 : Les antibiotiques utilisés dans notre étude

Familles	Antibiotique	Concentration	Provenance
<b>β-lactamines</b>	Amicilline + Acide clavulanique (AMC)	30 mcg /disc	Himedia, Inde
<b>β-lactamines</b>	Tétracycline (TE)	30 mcg /disc	Himedia, Inde
<b>Aminosides</b>	Gentamicine (GEN)	10 mcg /disc	Himedia, Inde
<b>Quinolones</b>	Enrofloxacin (ENR)	5 mcg /disc	Liofilchem ,Italie
<b>Phénicolé</b>	Chloramphénicol	30 mcg /disc	Liofilchem,Italie
<b>Sulfamides</b>	Triméthoprime sulfaméthoxazole (SXT)	23,75 mcg /disc	Himedia, Inde

### Lecture :

Elle se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

Pour les bactéries testées sur Muller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.

Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. (Annexe14)

Classer la bactérie dans l'une des bactéries Résistant (R), sensible (S) ou Intermédiaire (I). (Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale ,2014)



# *Résultats et discussion*

I. Bactériologie:

1 .Identification bactériologique des souches isolées :

L'isolement et la purification (sur Mac conkey et Hektoen) ainsi que l'identification bactériologique par les différents tests biochimiques (standards et galerie API20E) des souches récoltées sont présentés dans les figures ci dessous. (09 -20)

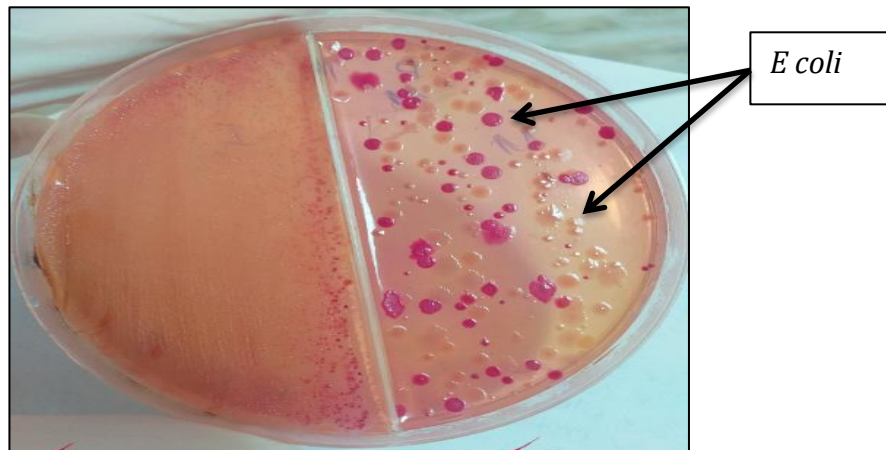


Figure 09:Aspect des différentes colonies sur Mac conkey



Figure 10:*proteus* sur Hektoen



Figure 11: *Enterobacter* sur Hektoen



Figure 12: *E coli* sur Hektoen

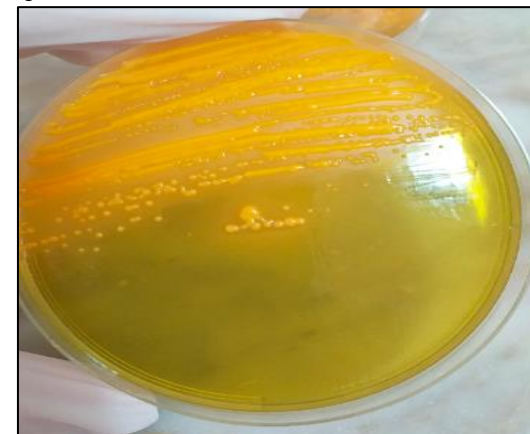


Figure 13: *klebsiella* sur Hektoen

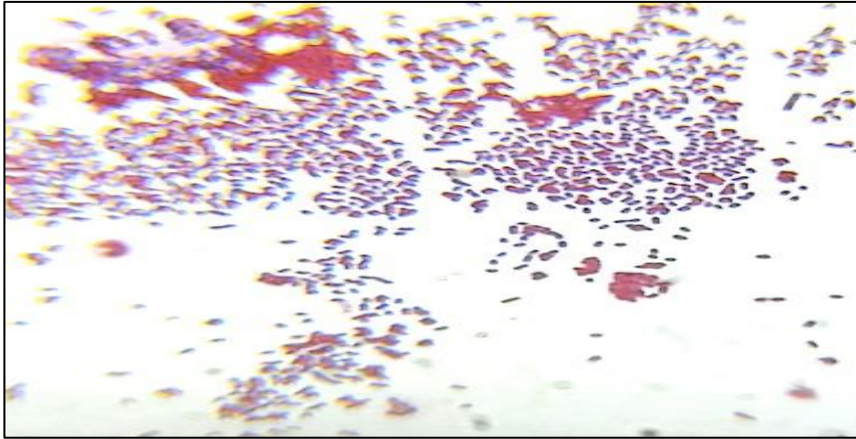


Figure 14 : Observation microscopique (coloration de Gram) des entérobactéries



Figure15 : Résultat catalase des entérobactéries

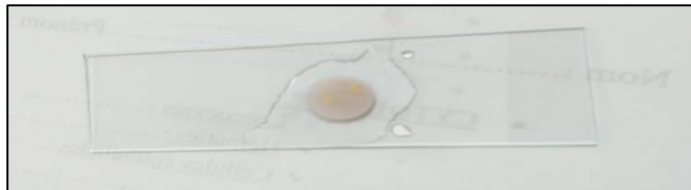


Figure 16 :Résultat du test oxydase des entérobactéries



Figure 17 : Résultat d'identification biochimique de *klebsiella Pneumoniae*



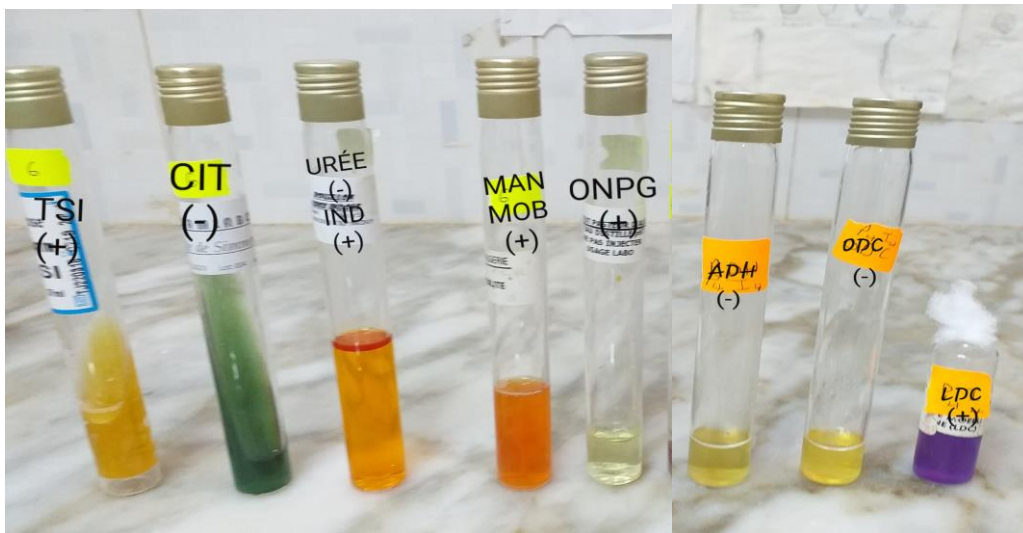


Figure 18 : Résultat d'identification biochimique de *E coli*



Figure 19 : Résultat d'identification biochimique de *Proteus mirabilis*

➤ Les résultats de tout les tests sont résumés dans le tableau (Annexe 11)

Galerie API 20 E :



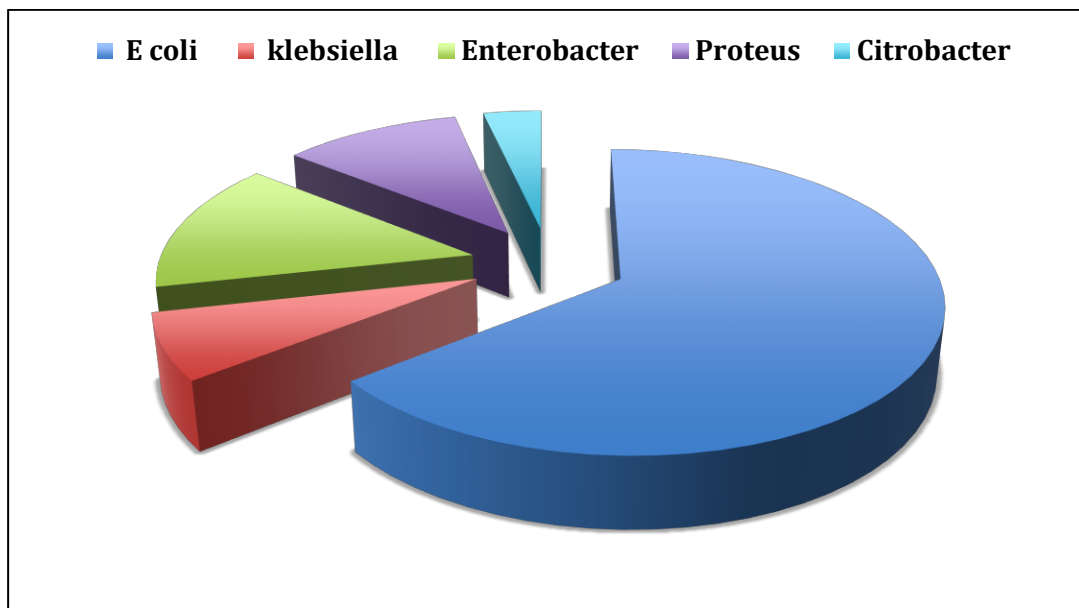
Figure 20: Résultat de la galerie API 20 E de la souche de *E coli*

ONPG (+) ;CIT (-) ; H<sub>2</sub>S (-) ; URE (-) ;IND (+) ; MAN (+) ; GLU(+) ; SOR(+);RHA(+); SA C (+);MEL(+); AMY (-) ; ARA (+) ; GEL (-) INO (-) .

### 1. Répartition des souches :

L'étude bactériologique des souches isolées nous a permis d'identifier 28 souches d'entérobactéries dont 18 isolats *E coli* ( 64,2%) ,02 *klebsiella pneumonia* (7,1%) , 04 *Enterobacter*( 14,2 %) ,03 *Proteus* ( 10,7 %) ,01 *Citrobacter koeri/farmeri* (3,5%).

La Figure (21) ci-dessous montre la répartition de ces entérobactéries.



**Figure 21** : Répartition des entérobactéries

Les résultats trouvés révèlent que *Escherichia coli* est l'espèce majoritaire (64,2%) suivie d'*Enterobacter* avec un taux de (14,2%), *Proteus* (10,7%), *klebsiella pneumonia* (7,1%) et *Citrobacter* (3,5%).

Ils montrent aussi clairement l'absence de contamination salmonellique, et cela peut s'expliquer par l'absence de la contamination par les *Salmonelles* des bandes précédentes. Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par Ahmed Ammar et al (2017) qui ont également révélé un taux d'infection nul par les salmonelles.

La prédominance de *E coli* dans le poulet a été révélée par plusieurs travaux scientifiques à travers le monde. Dans l'étude menée à l'ouest Algérien par Ahmed Ammar .Y et al en 2017 , sur les 150 souches d'entérobactéries étudiées 101 isolats appartenait à *Escherichia coli*, 27 *Proteus mirabilis*, 13 *Enterobacter cloacae* et 9 *Klebsiella pneumoniae* . Amira A. Moawad et al.(Égypte ,2018) ont isolé 72 souches d'entérobactéries qui ont été identifiées comme suit : 63 *E. coli* (87.5%), 5 *Enterobacter cloacae* (6.9%), 2 *Klebsiella*

*pneumoniae* (2.8%) et 2 *Citrobacter* spp. (2.8%).

Au Nigeria en 2012 Olufemi E. Ojo et al ont isolés 184 souches dont 104 *Escherichia coli* , 44 *Klebsiella* spp , 20 *Salmonella* spp. et 16 *Enterobacter aerogenes* .

Au Pakistan (2018) 214 souches ont été isolées a partir des poulets de chair par Asghar A. Kamboh et al, dont 103 *E. coli* ,81 *Salmonella* et 30 *Klebsiella*.

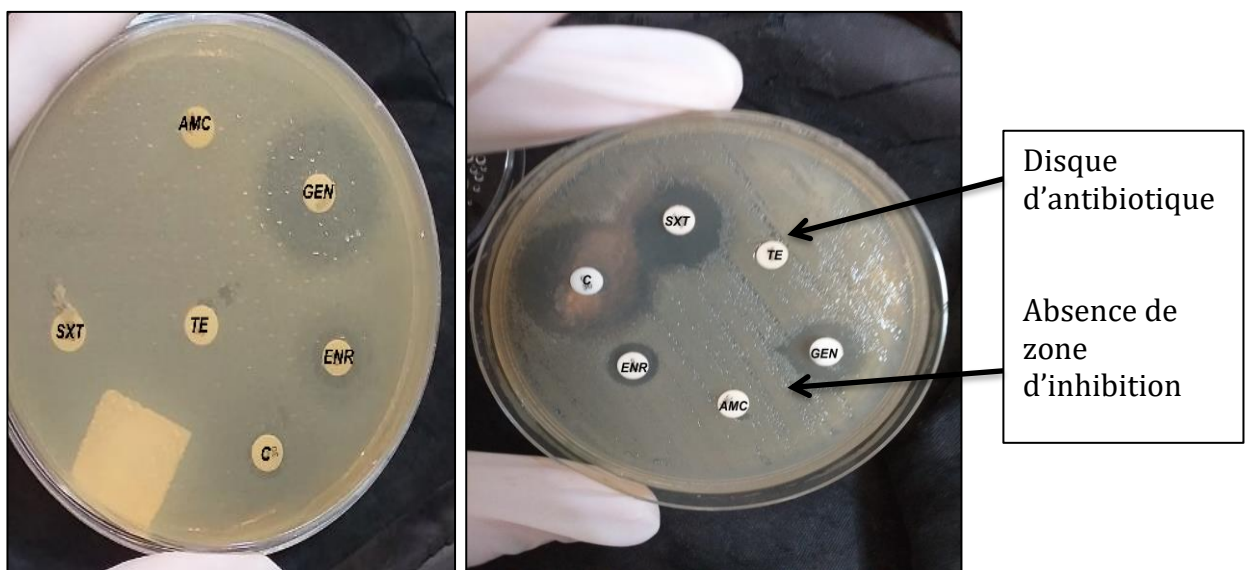
Les entérobactéries sont un groupe de bactéries fréquemment isolées dans les laboratoires de bactériologie, *E. coli* étant les espèces revenant le plus souvent (Bao et al, 2013 ; Okalla Ebongue et al, 2013)

Cette prédominance peut être expliquées par le fait que les *Escherichia coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille jeune et adulte. Parmi les poulets en bonne santé, 10 à 15% des coliformes intestinaux peuvent appartenir à des sérotypes potentiellement pathogènes d'*E. Coli* Amira A. Moawad et al (2018)

### I. Antibiorésistance :

Nous avons utilisé une lecture impérative : c'est-à-dire qu'on détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec ceux de la souche de référence ,les valeurs trouvées ont permis de classer les souches étudiées en trois catégories " sensible (S), résistante (R) " 'intermédiaire (I)' (Annexe 13).

Les figures (22, 23, 24,25) ci dessous montrent les profils de l'antibioresistance de quelques souches étudiées.



**Figure 22** : ATB de *proteus pennerii*    **Figure 23** : ATB de *E coli*



Figure 24 : ATB de *Enterobacter cloacea* Figure 25 : ATB de *Citrobacter koeri*

1. Fréquences d'antibiorésistance des entérobactéries :

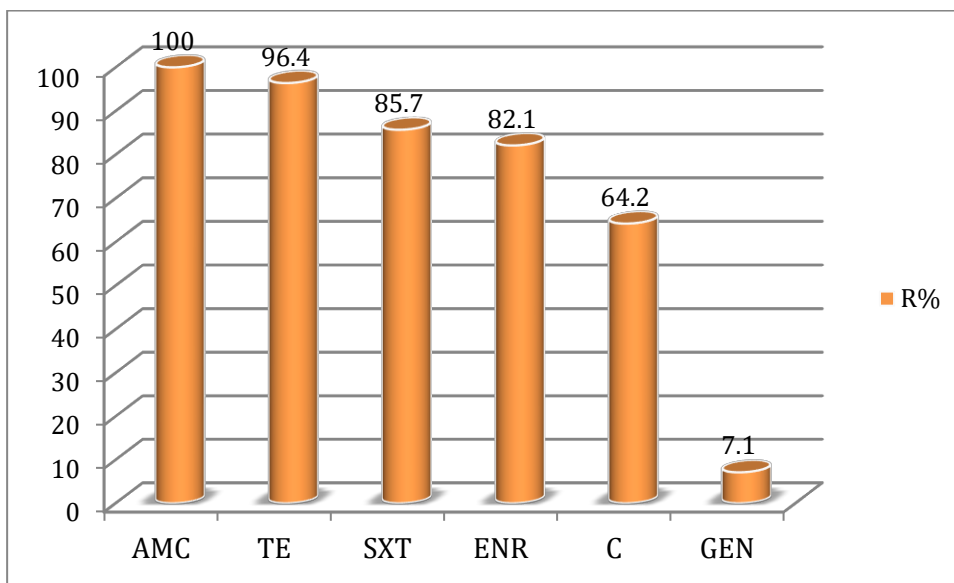


Figure 26 : Fréquences d'antibiorésistance des isolats d'entérobactéries

AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique - TE : Tétracycline - GN : Gentamicine – ENR : Enrofloxacin - SXT: Triméthoprime sulfaméthoxazole – C: Chloramphénicol.

Les résultats de la figure ci-dessus montrent que :

- Les entérobactéries isolées présentent une résistance très élevée vis-à-vis de l'amoxicilline + acide Clavulanique, la tétracycline , le triméthoprime sulfaméthoxazole et l'enrofloxacin avec des pourcentages de 100%, 96,4 %, 85,7% et 82,1% respectivement
- La résistance est moyenne pour Chloramphénicol avec un taux de 64,2%.



➤ Une très faible résistance a été observée pour la gentamicine (GN) avec un taux de 7,1% . Le tableau suivant (08) montre une comparaison des résultats de différentes études menées, dans différentes régions, sur l'antibiorésistance des entérobactéries d'origine aviaire.

**Tableau 07:** Les fréquences d'antibioresistance des entérobactéries dans le monde.

Études ATB	Nigeria 2012 Olufemi E. Ojo et al (%)	l'ouest de l'Algérie 2017 Ahmed Ammar .Y et al (%)	Égypte 2018 Amira A. Moawad et al (%)	Pakistan 2018 Asghar A. Kamboh et al (%)	Notre étude (Algérie ) 2019 (%)
<b>AMC</b>	–	34	26,8	93,94	100
<b>GEN</b>	–	6	19,6	78,79	7,1
<b>TE</b>	73,4	91	–	–	96,4
<b>SXT</b>	–	77,75	–	–	85,7
<b>C</b>	73.9	26	–	64,07	64,2
<b>ENR</b>	60.3	73,25	21,4	77,06	82,1

Suivant le tableau N°07 nous constatons que :

- Nos résultats sont très proches à ceux obtenus à l'ouest algérien par Ahmed Ammar .Y et al (2017) pour tous les antibiotiques utilisés. A l'exception de l'amoxiciline + acide clavunamique et chloramphénicol .
- Au niveau africain les fréquences de résistance enregistrées dans notre étude pour les antibiotiques utilisés sont plus élevées que celles obtenues par Olufemi E. Ojo et al (2012) au Nigéria et Amira A. Moawad et al en Égypte (2018) sauf pour chloramphénicol où les fréquences étaient proches à celles enregistrées par Olufemi E. Ojo et al (2012).
- Les taux de résistance à l'amoxicilline + acide clavulanique, chloramphénicol et l'enrofloxacin enregistrés dans nos résultats (100% ,64,2% et 82,1% respectivement) sont proches a ceux obtenus par Asghar A. Kamboh et al (2018) au Pakistan : 93,9% ,64,07% et 77,06% respectivement.



Les fréquences enregistrées dans le tableau, montrent que la résistance des entérobactéries à certains antibiotiques est en augmentation au cours de ces dernières années par exemple : la résistance à l'amoxicilline +acide clavulanique est passée de 34% en 2017 pour arriver à 100% dans notre étude la même chose pour le triméthoprime sulfaméthoxazole 77,75% en 2017 à 85,7% .

Cette résistance alarmante peut être due à la forte utilisation de ces molécules en élevage aviaire pour le traitement des différentes infections (Marie, 2008) ainsi que comme additifs alimentaires pour la «promotion de la croissance». En effet les tétracyclines sont des molécules très anciennement utilisées dans le domaine aviaire et cette utilisation est sans aucun doute l'une des explications de la forte résistance.

L'enrofloxacin sont des molécules de choix pour le traitement des omphalites des poussins de moins d'une semaine d'âge. Elles sont aussi largement utilisées lors de l'apparition des problèmes respiratoires.

Les sulfamides ainsi que l'amoxicilline + acide clavulanique sont aussi des molécules de choix pour le traitement des coccidioses et des entérites. La fréquence d'utilisation de ces molécules a favorisé la sélection des souches résistantes. (Rahmatallah .N et al ,2016)

Ce phénomène d'antibiorésistance, vis à vis ces trois dernières molécules, peut être aussi expliqué par l'utilisation accrue de ces molécules grâce à leur grande disponibilité sur le marché algérien (présence de génériques) avec des prix abordables, alors qu'il y a quelques années, il n'existait que la molécule mère qui était très chère. La diversité des mécanismes de résistance des bactéries peut être aussi responsable de cette hausse.

Concernant le chloramphénicol et la gentamicine, antibiotiques interdits en Algérie depuis plusieurs années (2001) à cause de leur toxicité , les taux enregistrés dans notre étude étaient de 64,2 % et 7,1% respectivement ,ce phénomène peut être expliqué par l'utilisation illicite de ces antibiotiques qui a donné la capacité à ces bactéries de développer une résistance, d'une part ou la persistance d'une ancienne antibiorésistance, d'une autre part. la présence d'une résistance spontanée est possible d'après les résultats obtenus par Iwaki M et al (2011).

Cette variation des taux d'antibiorésistance enregistrés dans les différentes études peut être liée à la différence de la fréquence d'utilisation de certaines molécules, selon le pays, pour traiter ou prévenir les maladies : par exemple le taux d'antibiorésistance enregistré vis à vis l'enrofloxacin était de 21,4% en Égypte (2018) ,60,3% au Nigeria (2012) et 82,1% dans notre étude .

Pour la gentamicine le taux était de 19,6% en Égypte (2018), 78,79% en Pakistan (2018) et 7,1% dans notre étude (2019).

### 2. Fréquences d'antibiorésistances des souches isolées:

Le tableau suivant représente la fréquence de résistance de chaque souche vis-à-vis les antibiotiques testés .

**Tableau 08:** Fréquences d'antibiorésistance des souches isolées .

ATB Souches	AMC (%)	TE (%)	ENR (%)	C (%)	SXT (%)	GEN (%)
<i>E coli</i>	100	94,4	94,4	55,5	88,8	1,1
<i>Enterobacter</i>	100*	100	50	50	50	00
<i>Proteus</i>	100	100*	66,6	100	100	00
<i>Klebsiella</i>	100	100	50	100	100	00
<i>Citrobacter</i>	100*	100	100	100	100	00

\* Résistance naturelle

A la lumière des résultats mentionnés dans le tableau précédent, nous constatons que pour:

#### ➤ *E coli* :

Les taux enregistrés pour les isolats *E coli* sont très élevés vis à vis :l'amoxicilline + acide clavulanique (100%), tétracycline (94,4%), enrofloxacin (94,4%) et triméthoprime sulfaméthoxazole (88,8%), moyen à faible pour chloramphénicol (55,5%) et la gentamicine (11,1%) respectivement. Nos résultats concordent avec ceux rapportés par Waleed A. Ibrahim et al (2019) dans leur étude menée en Égypte pour l'amoxicilline + acide clavulanique (94,12%), la tétracycline (94,12%) et triméthoprime sulfaméthoxazole (100%), Par contre, ils sont plus faible par rapport à la gentamicine où les taux étaient de 1,1% contre 64,7%.

Le même constat a été fait par rapport aux travaux de Ahmed Ammar .Y et al (2017, ouest Algérien) où les taux étaient proches aux nôtres pour l'enrofloxacin (86%) , la tétracycline (92%) et les sulfamides (91%) ,sauf pour l'amoxicilline + acide clavulanique (17%) et chloramphénicol (05%) où la résistance était plus faible.

Rahmatallah .N et al ,(2016) au Maroc ont obtenu des fréquences similaires pour les tétracyclines et triméthoprime sulfaméthoxazole (100% et 82,8% contre 94,4% et 88,8%), par contre elles sont plus faibles pour l'enrofloxacin (75,9% contre 94,4%) et plus élevées pour la gentamicine (24,8% contre 11,1%) .

Au niveau méditerranéen, les taux de résistance enregistrés dans notre étude restent relativement élevés, Ces taux d'antibiorésistance sont alarmants et inquiétants et reflètent l'utilisation de plus en plus importante de ces antibiotiques dans l'élevage avicole.

L'utilisation inappropriée de ces derniers ainsi que la résistance croisée entre différentes molécules peuvent être incriminées aussi.

### ➤ *Enterobacter* :

100% de ces souches présentent une résistance pour la tétracycline, 50% sont résistantes à l'enrofloxacin, le triméthoprime sulfaméthoxazole et le chloramphénicol, par contre aucune résistance n'a été observée pour la gentamicine. Les résultats de Ahmed Ammar .Y et al (2017) sont similaires aux nôtres sauf pour l'amoxicilline + acide clavulanique et chloramphénicol où les isolats étaient faiblement résistants (15% chacun). Dans l'étude de Amira A. Moawad et al (2018) menée en Égypte les taux étaient plus faibles vis à vis l'amoxicilline + acide clavulanique , chloramphénicol et tétracycline (80%, 20% et 20% respectivement) sauf pour la triméthoprime sulfaméthoxazole et la gentamicine les résistances étaient plus élevées avec des taux de 60% et 20% respectivement .

Le taux élevé de la résistance pour l'amoxicilline + acide clavulanique peut être expliquée par une résistance naturelle.

### ➤ *Proteus et Klebsiella*

Les résultats obtenus dans notre étude révèlent des taux d'antibiorésistance élevés vis-à-vis tous les antibiotiques avec une fréquence de (100%) pour chaque souche à l'exception de l'enrofloxacin où les taux étaient de 66,6% pour *Proteus* et 50% pour *Klebsiella* et la gentamicine où la résistance était nulle (0%).

Pour les isolats *Proteus* nos résultats sont légèrement supérieurs par rapport à ceux de Nahar et al 2014 en Bengladesh sauf pour la gentamicine.

Ahmed Ammar .Y et al (2017) ont constatés des fréquences similaire (enrofloxacin 77%, tétracycline 100%, triméthoprime sulfaméthoxazole 74%, gentamicine 14%, l'amoxicilline + acide clavulanique (85%) mais une faible résistance pour chloramphénicol.

L'émergence de la résistance envers les  $\beta$ -lactamines est devenue alarmante, car elles restent souvent le choix typique des cliniciens dans le traitement d'une large gamme d'infections causées par *Proteus sp.* Selon un rapport récent, Bangladesh, Wong et al ,2013.

Cette résistance est inquiétante, le rôle des poulets tant que réservoir est très important car la flore intestinale peut être la source de ces bactéries qui peuvent se transmettre à l'homme, (Nemati, 2013) (*proteus* est l'un des agents pathogènes les plus importants du tractus urinaires de l'homme)

Le taux très élevé de la résistance des souches de *proteus* aux tétracyclines, est éventuellement du à la résistance naturelle.

Les taux de résistance enregistrés dans notre étude pour les isolats *Klebsiella* sont supérieurs à ceux obtenus par Ahmed Ammar .Y et al (2017) vis à vis tous les antibiotiques testés sauf pour l'enrofloxacin qui a présenté un taux plus faible (77% contre 50%) . Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Meutia Hayati et al (2019) en Indonésie pour les betalactamines, les tétracyclines ainsi que la gentamicine avec des taux de 100% , 90%, 0% respectivement par contre ils sont plus élevés concernant l'enrofloxacin où la fréquence était de (18,2% contre 50%) .

De plus en plus de preuves scientifiques montrent que ces bactéries résistantes, y compris les agents pathogènes, peuvent être transférées aux humains par la chaîne alimentaire (Fielding B. C et al 2012).

### ➤ *Citrobacter* :

100% de ces isolats sont résistants à tout les antibiotiques utilisés sauf pour la gentamicine où aucune résistance n'a été observée. Ces différences de fréquences d'antibiorésistance peuvent être liées d'une part aux nombres d'isolats qui est très faible dans notre étude et à la fréquence d'utilisation, selon le pays, de ces antibiotiques pour traiter ou prévenir les maladies, d'autre part.

Cette forte résistance observée chez les bactéries saprophytes présente un indicateur de l'état de l'antibiorésistance des autres germes pathogènes. (Kijima-Tanaka et al, 2003).

Une surveillance régulière de la résistance aux antimicrobiens chez les entérobactéries commensaux d'origine animale sont nécessaires dans le cadre de la stratégie de détection précoce de la résistance aux antimicrobiens dans la communauté. (Goodyear, 2002, Kijima-Tanaka et al ,2003).

3. Fréquence des résistances intermédiaires :

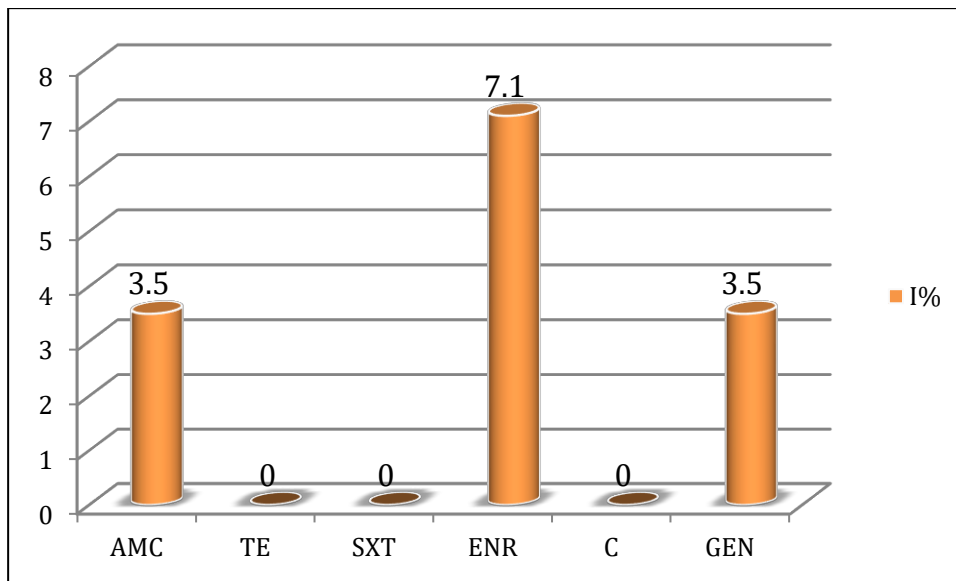


Figure 27 : Fréquences des résistances intermédiaires aux antibiotiques des isolats d'entérobactéries.

Les résultats de la figure 27 révèlent que 7,1% des entérobactéries étudiées présentent une résistance intermédiaire à l'enrofloxaciné , 3,5% présentent une résistance intermédiaire à l'amoxicilline + acide clavulanique et la gentamicine, cette fréquence est plus faible que celle obtenue par (Amira A. Moawad et al , 2018 en Égypte).

Ces souches :

- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression *in vitro* est faible, avec pour conséquence leur classement dans la catégorie S. Cependant, *in vivo*, une partie de ces souches apparaît résistante au traitement.
- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour justifier un classement dans la catégorie R, mais suffisante pour favoriser l'apparition d'une résistance *in vivo* en cours de traitement.
- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour justifier un classement dans la catégorie R, mais suffisamment faible pour espérer un effet thérapeutique dans certaines conditions (fortes concentrations locales ou posologies accrues) (Vettier, 1998).

**4. Fréquences de multirésistance des souches isolées :**

Le tableau 10 représente la fréquence de résistance des souches a 1, 2, 3,4, 5,6 antibiotiques différents.

**Tableau 09:** Fréquences de multirésistance des souches isolées.

Nombre d'antibiotiques	Pourcentage de souches résistantes
1	0%
2	7,1%
3	3,5%
4	35,7%
5	53,5%
6	0%

D'après les résultats mentionnés dans ce tableau, nous avons remarqué l'absence de souche parfaitement sensible, 100% des isolats sont résistants à au moins 2 antibiotiques différents, 35,7% sont résistants à 4 antibiotiques différents et 53,5% sont résistants à cinq (05) antibiotiques différents .Ces résultats sont proches a ceux rapportés a l'ouest algérien (Ahmed Ammar .Y et al, 2017) où toutes les souches étaient résistants à au moins deux (2) antibiotiques.

Contrairement a notre étude Olufemi E. Ojo et al (2012) en Nigéria ont constaté la présence des souches sensible a tout les antibiotiques.

Cette multiresistance est probablement due à l'automédication par les éleveurs, l'alternation des molécules avant que le premier traitement donne ses résultats et le non respect du délai de traitement. En effet de nombreux antibiotiques sont administrés de manière concomitante à titre préventif et curatif sans avoir recours à l'antibiogramme afin de choisir la molécule la plus efficace contre la maladie dont il s'agit.

Cela indique que l'utilisation abusive et aveugle des antibiotiques est probablement la genèse de la forte incidence de résistance aux antibiotiques et de multirésistance.

Cette impressionnante multirésistance est très inquiétante car elle présente un énorme risque pour l'élevage avicole lors des transmissions plasmidiques des résistances d'où échec de traitement, et par conséquent diminution de la production à cause de l'augmentation de taux de morbidité et de mortalité, d'une part.

D'autre part, la contamination de l'homme par ces bactéries multirésistantes (par exemple lors des opérations d'abattage ou en consommant des produits d'origine animale contaminés) constituerai l'une des causes majeures des difficultés de traitements rencontrés chez l'homme.

### 5. Fréquences de la multirésistance des isolats selon les Patterns (antibiotypes) :

Le tableau suivant montre les pourcentages de multirésistance des entérobactéries isolées pour chaque antibiotique incriminé.

**Tableau 10** : Fréquences de la multirésistance des isolats selon les Patterns

Les antibiotiques (pattern)	Désignation	Nombre de souches	Pourcentage de résistance
AMC- ENR – C- SXT- TE	A	15	53,5%
AMC – C - SXT – TE	B	02	7,1%
AMC – ENR –SXT – TE	C	06	21,4%
AMC –ENR – TE – GEN	D	01	3,5%
AMC – ENR – GEN	E	01	3,5%
AMC – TE	F	02	7,1%

**A** : AMC-ENR-C-SXT-TE / **B** : AMC-C-SXT-TE / **C** :AMC-ENR-SXT-TE / **D** :AMC-ENR-TE-GEN / **E** :AMC-ENR-GEN / **F** :AMC-TE .

Six antibiotypes sont obtenus chez les souches étudiées, avec la présence de la résistance à l'amoxicilline + acide clavulanique dans tout les patterns.

L'antibiotype A (AMC – ENR –SXT – TE ) est le plus fréquent avec un taux de 53,5% suivi du C (AMC-ENR-SXT-TE) avec un taux de 21,4%.

Ces résultats reflètent l'utilisation abusive et anarchique de ces antibiotiques à cause de leur large disponibilité sur le marché algérien en absence de législation réglementant leur utilisation à titre thérapeutique et préventif.

Ainsi plusieurs antibiotiques sont utilisés communément à titre préventif et curatif sans avoir recours à l'antibiogramme pour choisir la molécule la plus efficace contre la maladie dont il s'agit.

*Conclusion*



### Conclusion :

Cette étude montre que parmi les entérobactéries isolées du poulet de chair, *E coli* est la bactérie la plus répandue (64,2%) suivie par *Enterobacter* (14,2 %), *Proteus* (10,7%), *klebsiella pneumonia* (7,1%) et *Citrobacter* (3,5%).

Les résultats de l'antibiogramme révèlent des pourcentages de résistance très élevés vis-à-vis les antibiotiques testés : amoxicilline + acide clavulanique (100%), tétracycline (96,4%), trimethoprim sulfamethoxazole (85,7%), enrofloxacin (82,1%). Cette forte résistance vis à vis ces molécules les rend inefficaces dans la lutte contre les pathologies causées par ce type d'entérobactéries (notamment la colibacillose).

La résistance observée pour le chloramphénicol (64,2%) ainsi que la gentamicine (7,1%), molécules retirées du marché mondial officiel depuis plusieurs années, impliquerait une utilisation illégale des produits.

Les taux de la multirésistance sont très alarmants, 100% des isolats sont résistants à au moins 2 antibiotiques et plus de 53% sont résistants à 5 antibiotiques différents.

L'utilisation anarchique des antibiotiques par les aviculteurs sans avis vétérinaire est une pratique qui devient de plus en plus courante, ce qui augmente le phénomène de l'antibiorésistance et la multirésistance. Cette conséquence est observée chez les souches isolées. Ces dernières peuvent être à l'origine de l'émergence des souches résistantes aux antibiotiques et même leur transmission vers l'homme, l'environnement et d'autres animaux.

Afin d'éviter l'émergence de nouveau profils de résistance et/ou de réduire l'émergence des anciens profils, il faut agir à deux niveaux : en Amont, en contrôlant la prescription, la délivrance et la consommation de l'antibiotique et en Aval, en réduisant les risques de dissémination et de transmission des entérobactéries résistante (commensale ou pathogène) par le respect strict et le maintien rigoureux des mesures d'hygiène et de sécurité sanitaire.

Nous recommandons aux éleveurs de se former à la pratique de l'aviculture. Ils doivent proscrire l'automédication et avoir recours aux services d'un vétérinaire praticien.

Dans ce contexte nous proposons de mener des études plus approfondies en augmentant le nombre d'échantillons, et d'élargir l'étude par la réalisation d'autres types de prélèvements : oeufs, surface ,environnement...

*Références  
bibliographiques*

- AFSSA (2006) ; Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine [En ligne] Disponible sur : <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Ra-ABR.pdf>
- Ahmed Ammara .Y ,Moulaya .M ,Bouzidc .R ,Benameurd .Q, Aggada .H .2017 . Bacterial Resistance of Enterobacterea isolates in Western Algeria . J. Appl. Environ. Biol. Sci., 7(1)140-145, .
- Alleyne,G.A.O., Acha,P.N., Szyfres,B. (2001). Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. P. A. H. O. V 1 :1225 p.
- Alloui N., (2011). Situation actuelle et perspective de modernisation de la filière avicole en Algérie. 9èmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 29 et 30 mars : 54-58 .
- Alloui,(2014.) 3eme Symposium de la recherche avicole. (universite de Batna. Institut des sciences veterinaires et des sciences agronomiques,Batna)
- Amira A. Moawad, Helmut Hotzel, Heinrich Neubauer, Ralf Ehricht, Stefan Monecke,Herbert Tomaso, Hafez M. Hafez, Uwe Roesler and Hosny El Adawy ,(2018) ,Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* from healthy broilers in Egypt: emergence of colistin-resistant and extended-spectrum-betalactamase-producing *Escherichia coli* , Gut Pathogens,1-12 P .
- Asghar A. Kamboh Muhammad Shoaib, Shahid H. Abro Muhammd .A, Khan Kanwar .A, K. Malhi, Shengqing Yu, (2018) ,Antimicrobial Resistance in Enterobacteriaceae Isolated from Liver of Commercial Broilers and Backyard Chickens , JAPR: Field Report , Poultry Science Association Inc.1--8
- Avril, J.L., Dabernat.H., Denis, F., Monteil, H. (1992). Bactériologie clinique. 2ème Ed. Ellipses, Paris. P 149-153.
- Avril ,J.L .,Dabernat, H., Denis,F., Monteil,H (2000). Bactériologie Clinique Ellipses, 3é édition, France : 114 p
- Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (2000). Bactériologie clinique, Ellipses,Paris. 2éme édition : 171-211
- Bao L., R. Peng, Ren X., R. Ma, J. Lian, Y. Wang, (2013). Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. Pakistan J. Med. Sc. 29(1): 135-139.
- Barnes H.J., Vaillancourt J.P., Gross W.B., (2003).Colibacillosis. dans : Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE (eds) Diseases ofpoultry, 11th ed. Iowa State Press, Ames, 631–656.
- Blaak H, Van Hoek Aham, Hamidjaja Ra, Van Der Plaats Rqj, Kerkhof De Heer L, De Roda Husman Am, Schets F (2015) ; Distribution, numbers and diversiy of ESBL-producing E.coli

in the poultryfarm environment ; PloS One, 10(8) : e0135402 .

- BioMérieux ,(2010). Système d'identification des *Entérobactériaceae* et autres bacilles à gram négatif non fastidieux (API20E) .07584J-fr .
- Boone, D.R., Garrity, G., Richard, W. (2001). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*. 2nd Edition. 721p
- Brugere-Picoux J, Bouzouiaia M, Vaillancourt J, Shivaprasad H, Venne D.(2015). *Manuel De Pathologie aviaire*. Paris: AFAS, 701p.
- C.I.H.E.A.M, (1990) : Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algérie Options Méditerranéennes , p 254-257.
- Carbonnelle, B., Denis,F., Marmonier,A (1987). *Bactériologie Médicale : Techniques usuelles*. Paris. 121-137p.
- Claire .D,Guillaume .G,(2016).Exercices :méthodologie. De Boeck Supérieur.
- Danièle Meunier ,(2006) . AntibioGramme des Entérobactéries , Journée de formation RESAPATH.Afssa .[www.resapath.anses.fr/pdf](http://www.resapath.anses.fr/pdf).
- Dedier. F, (1996). *Guide de l'aviculture tropicale*. Cedex. Sanofi. 117 p.
- DELARRAS C. (2010). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris. P 247-253 ; 255-263.
- Denis .S ,(2013). *Pharmacologie et thérapeutique*. 2e édition – Ballan-Miré (France) :Editions Lamarre .
- Denis,F.,Ploy,C.M., Martin,C., Bingen,E., Quentin,R. (2007). *Bactériologie médicale : Techniques usuelles*. Ed. Elsevier Masson SAS. p.335-401
- E.B. Sonaiya et S.E. J. Swan .(2004). *Production en aviculture familiale*. FAO Production Et Santé Animales: Rome, 2004.
- Fauchere, J.L.,Avril, J.L.( 2002). *Bactériologie générale et médicale*. Ed Ellipses, Paris. P 239-241 ; 245 ; 249-250
- Fenardji .F,(1990 ). *Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algérie*. CIHEAM - Options Méditerranéennes,p 253-261 .
- Ferrah A., (1993): *Bases économiques et techniques de l'industrie d'accoupage « chair » et « ponte »*, en Algérie. ITPE
- Fielding Burtram C., Amanda Mnabisa, Pieter A. Gouws, Thureyah Morris (2012); *Antimicrobial-resistant Klebsiella species isolated from free-range chicken samples in an informal settlement*. *Basic research* .4.40-42.
- Goodyear, K. L. (2002): *Veterinary surveillance for antimicrobial resistance*. *J. Antimicrob. Chemother.* 50, 612-614.

- Guarda bassi L., Lars B. J. and Hilde K. (2008). Guide to Antimicrobial Use in Animals. Ed. *Blackwell Pub.* USA. 236 p.
- Guerin-Faublee V. (2010). Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. In : Journées nationales GTV, Lille, 26-28 mai 2010, SNGTV, Paris, 93-101.
- Hafed.Z , Benguedour .R, Aboussaleh.Y , Zeggari.L ,Aouane.M , Berrid.N , Sabaibi.R ,(2016) . Profil d'antibiorésistance d'*Echrichia coli* d'origine aviaire ;cas de poulet de chair dans la region de grande Casablanca-Maroc .Open Access .1(5).50-54.
- Hammoudi .A,(2009). Sérotypes, antibiorésistance et identification de gènes de virulence des *Escherichia coli* pathogènes dans les élevages avicoles en Algérie. Actes des 1ères JE-RGAL .1(8).p 40-47.
- ICMSF: (1996) (International commission on microbiological specifications for foods). Salmonellae. Microorganisms in foods.5. Microbiological specifications of food pathogens. Blackie academic & professional edition.: 217-264.
- Iwaki M, Noguchi N, Nakaminami H, Sasatsu M, Ito M. (2011).Antimicrobial activity and frequency of spontaneous gentamicin-resistant mutants in bacteria related skin infections. J. Phrama. Soc. Japan.;131(11):1653-9.
- Jean, F., Pascale,G., Anne-Marie,F., François, N.R.,(2007) Biologie Medicale Entérobactéries Elsevier SAS 392 p.
- Kaci A., (2013). La pratique d'élevage du poulet de chair dans la region du centre d'Algérie :diagnostic et perspectives. 10èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras,La Rochelle, du 26 au 28 mars : 62-67.
- Kijima-Tanaka, M., K. Ishihara, A. Morioka, A. Kojima, T. Ohzono, K. Ogikubo, T. Takahashi, Y. Tamura (2003): A national surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from food-producing animals in Japan. J. Antimicrob. Chemother. 51, 447-451.
- Kirouani.l. (2015) . Structure and organization of the poultry sector in Algeria - Case of the province of Bejaia . El-Bahith Review,13(1) , 187-199.
- Katunda. L, (2006). Cours de zootechnie Faculté des sciences agronomiques université de Bandundu .
- Lozniewski A., Rabaud C., Nancy (2010) . Resistance Bacterienne Aux Antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins. 1-4.
- Lulful-Kabi S.M. (2010). Avian colibacillosis and salmonellosis a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns, international, journal of environmental research and public health Int. J.

- M.-L. Joly-Guillou,(2006) Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie E-test method for guiding antibiotic therapy .ELSEVIER .(4).238-240.
- MATEO Clélia (2016). Contribution a l'étude de l'usage des antibiotiques en filieres aviaires et aux consequences de cet usage en matiere d'antibioresistance (These de doctorat , l'universite Claude-Bernard - Lyon I).
- Marie B.P. (2008). Étude de l'influence du nettoyage et de la désinfection et des procédés d'abattage en abattoir de volaille sur le niveau de résistance aux antibiotique
- Mérens. A ,(2010) . Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones . [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(10\)70508-6](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(10)70508-6).
- Michel Guérineau, Annie Buu Hoï, 2019. PLASMIDES », *Encyclopædia Universalis* . <http://www.universalis.fr/encyclopedie/plasmides>
- Ministere de L'Agriculture et Du Développement Rural, (2004). Dictionnaire des médicaments a usage vétérinaire. 322p.
- Ministere des solidarités et de la santé .(2018) . L'antibiorésistance : pourquoi est-ce si grave ?. [www.solidarites-santé.gouv.fr/prevention-en-sante/les-antibio...](http://www.solidarites-santé.gouv.fr/prevention-en-sante/les-antibio...)
- Morad .Y,(2016).Indicateurs technico-économiques de la production du poulet de chair dans la région d'Ain touta .(memoire de Magister ,université batna 1 institut des sciences veterinaires et des sciences agronomiques,Batna) <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/33216>
- Moritz van Vuuren .(2001). Résistance aux antibiotiques, notamment en aviculture. Conf. OIE.1(12).p 123-134.
- Nahar .A, Mashuk .S, Nahar .S, Kazi Selim .A, Sk Imran A Salequl Islam.(2014). Multidrug Resistant-*Proteus Mirabilis* Isolated from Chicken Droppingsin Commercial Poultry Farms: Bio-security Concern and Emerging PublicHealth Threat in Bangladesh. *Biosafety & Health Education*.5.3-5.
- Nait Bourdou, Brahim, (2009). Antibioresistance des enterobacteries aux bêta- lactamines Au laboratoire de microbiologie de l'hôpital ibn sina de rabat (2005- 2007).(Thèses de pharmacie:AD3.Université Mohammed-VRabat) <http://hdl.handle.net/123456789/14300> .
- Nemati M. Antimicrobial resistance of proteus isolates from poultry. *Euro. J. Exp. Bio.* 2013; 3(6):499-500. Norris, (1999).
- Olufemi E.Ojo,Olatunde G .Ogunyinka , Michael Agbaje ,James O. Okuboye , Olugbenga O.kchinde , Mufutau A. Oyekunle .(2012) .Antibiogram of Enterobacteriaceae isoled from free-range chickens in Abeokuta .Nigeria .*Veterinarski ARHIV* 82(6) ,577-589 .
- OMS.(2017).Semaine mondiale pour un bon usage des antibiotiques.[www.who.int/campaigns/world-antibiotic](http://www.who.int/campaigns/world-antibiotic) .

- OMS/Europe.(2019).Résistance aux antimicrobiens <http://www.euro.who.int/fr/health-topics/disease-prevention/a...>
- OMS (2017). Faire un usage rationnel des antibiotiques pour combattre la propagation de la résistance aux médicaments . <https://www.who.int/campaigns/world--antibiotic--awareness->
- Perriere, G. (1992) application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation certain aspects de l'expression de gènes chez *E. coli* UCBL Thèse Université de Lyon I.France. 14 , 77.
- Peshkova A.(2015).Interet de l'aromathérapie dans la lutte contre la resistance bacterienne aux antibiotiques : Application dans les pathologies courante à l'officine. These de doctorat ,Lyon : Université Claude Bernard Lyon1, 149p.
- Pierson .A ,(2008) , Techniques Bactériologiques. Coloration de gram , BiolTrop ,Version 1.0,
- Pilet,C., Bourdon, J.L., Toma, B. (1979). Les Entérobactéries : Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne. Doins. Paris. p.109-187.
- Rahmatallah.N. Nassik., S, El Rhaffouli.H., Lahlou Amine .I., El Houadfi M. (2016). *Détection de souches multi-résistantes d'Escherichia coli d'origine aviaire . Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. (2017) 5 (2):96-102.*
- Rostagno,M.H.,Wesley,I.,Trampel,D., Hurd.H. 2006. Salmonella prevalence in market-age turkeys on farm and at slaughter. Poultry science. 85(10):1838-1842.
- Rowe-Magnus, D. A., A. M. Guerout, P. Ploncard, B. Dychinco, J. Davies, and D. Mazel. (2001). The evolutionary history of chromosomal super-integrans provides an ancestry for multiresistant integrans. Proc Natl Acad Sci U S A 98:652-7.
- Ruppé E., (2010). Épidémiologie des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTXM. Antibiotiques. 12: 3-16.
- Savane. M,(1996).L'aviculture rurale au Senegal contraintes et perspectives zoo- économiques cas de la haute casamance (Memoire de doctorat, universite cheikhanta diopd de dakar).
- Scott, G. (2009). Antibiotic resistance. Medicine, 37(10), 551-556
- Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale .(2014) 7eme edition .P171-179 .
- Tang YW, Procop GW, Persing DH. Molecular diagnostics of infectious diseases. Clin Chem (1997);43:2021-38.
- Tony Hart, Paul Shears (1997). Atlas de poche de microbiologie.( 1er edition,137 page). Flammarion Médecine-Sciences 4, rue Casimir-Delavigne 75006 PARIS .
- Van den Bogaard Ae, London N, Driessen C, Stobberingh Ee (2001) ; Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers ; *Journal of*

*antimicrobial Chemotherapy*, 47 : 763-771.

- Vaubourdolle.M,(2007). Infectiologie 3e édition. Wolters Kluwer SA.P 347,348.
- Waleed A. Ibrahim, Sherif A. Marouf, Ahmed M. Erfan, Soad A. Nasef , Jakeen K. El Jakee.(2019) . The occurrence of disinfectant and antibiotic-resistant genes in *Escherichia coli* isolated from chickens in Egypt. *Veterinary World* .(5) .141-145.
- Wong M. H., Wan H. Y., Chen S. Characterization of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* isolated from chicken carcasses. *Foodborne Path. Disea.* (2013); 10: 177-181.
- Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. et Ouar Korich M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°91.
- Yehia HM. (2013). Antimicrobial resistance patterns of Enterobacteriaceae and non - Enterobacteriaceae isolated from poultry intestinal.Life Science Journal. 10 Supp1: 3438-3444.
- Vettier. C, (1998). L'antibiothérapie, p. 1-6.



# *Annexes*

**Annexe 1:** Composition des milieux d'isolement et purification**Muller-Hinton**

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

**Hektoen**

Protéose peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	9g
Sels biliaires	1,5g
Citrate de fer ammoniacal	2g
Salicine	12g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fuchine acide	0,1g
Bleu de bromothymol	0,065g
Agar	13g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH= 7,5	

**Annexe 2 :** Composition du milieu utilisé pour l'antibiogramme.• **Gélose Mueller-Hinton**

Infusion de viande de bœuf	300ml
Peptone de caséine	17,5g
Amidon de maïs	1,5g
Agar	17g
Eau distillée :	1000 ml
pH = 7,4	

**Annexe 3:** Composition des milieux utilisés pour l'identification biochimique.• **Milieu de Citrate de Simmons**

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

• **TSI (Triple Sugar Iron)**

Peptone	20g
Extrait de viande	2,5g
Extrait de levure	3g

Chlorure de sodium	5g
Citrate ferrique	0,5g
Thiosulphate de sodium	0,5g
Lactose	10g
Saccharose	10g
Glycose	1g
Rouge de phénol	0,024
Agar	11g
Eau distillée q.s.p	1000ml
pH=7,4	
• <b>Milieu Mannitol-mobilité</b>	
Peptone trypsique de viande	20,0 g
Agar	4,0 g
Mannitol	2,0 g
Nitrate de potassium	1,0 g
Rouge de phénol à 01%	04 ml
PH= 7,6 a 7,8	
• <b>Milieu urée indole</b>	
L-Tryptophane	3,0g
Phosphate d'acide de potassium	1,0g
Phosphate de mono acide de potassium	1,0g
Chlorure de sodium	5,0g
Urée	20,0ml
Alcool a 95°	10ml
Rouge de phénol en solution à 1%	2,5 ml
- <b>LDC</b>	
Extrait de levure	03g.
L-lysine (monochlorhydrate)	05g.
Glucose	01g.
Bromocrésol pourpre	0,16mg.
Éthanol	01ml.
Chlorure de sodium	05g.
pH = 6,8	
- <b>ODC</b>	
Extrait de levure	03g.
L-ornithine (monochlorhydrate)	05g.
Glucose	01g.
Bromocrésol pourpre	0,16mg.
Éthanol	01ml.
Chlorure de sodium	05g.
pH = 6,8	
- <b>ADH</b>	
Extrait de levure	03g.
L-arginine (monochlorhydrate).	05g.
Glucose	01g.
Bromocrésol pourpre	0,16mg.
Éthanol	01ml.
Chlorure de sodium	05g.
pH = 6,8	

**Annexe 4:** Composition de colorants et réactifs

**Violet de gentiane**

Violet gentian	01 g
Ethanol a 90%	10 ml
Phénol	02 g
Eau distillée	100 ml

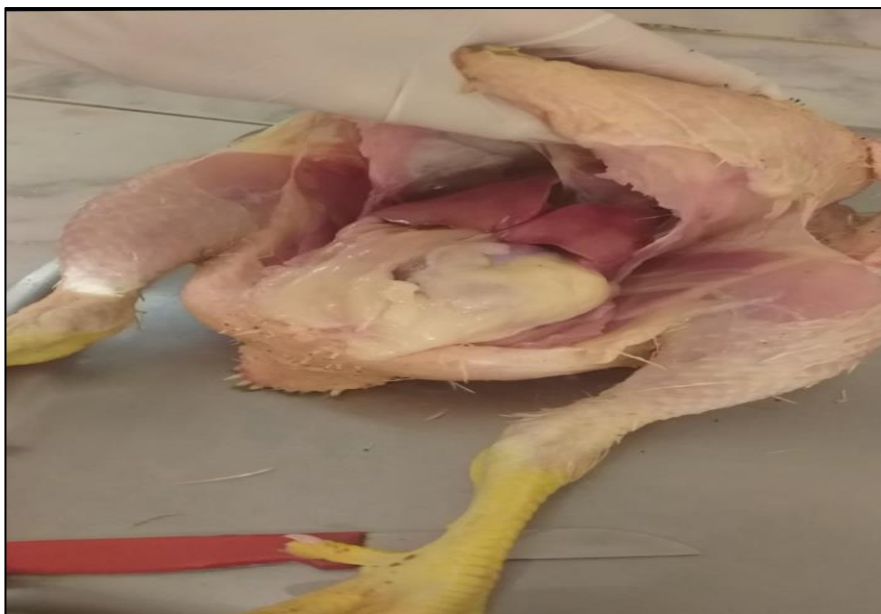
**Lugol**

Iode	01 g
Iodure de potassium	02 g
Eau distillée	300 ml

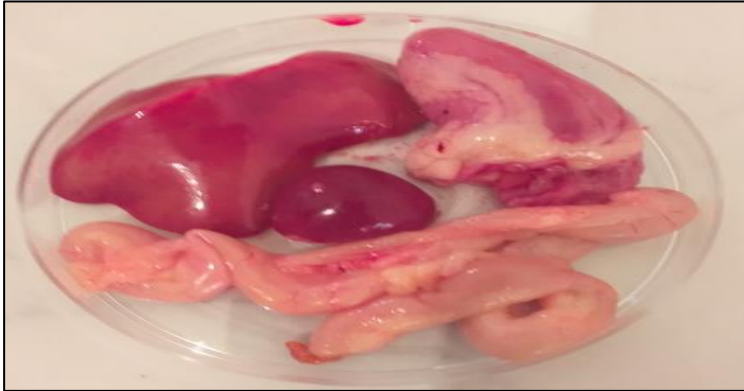
**Fuchsine**

Fuchsine basique	01 g
Alcool éthylique a 90°	10 ml
Phénol	05 g
Eau distillée	100 ml

**Annexe 5 :** Poulet de chair utilisé pour l'échantillonnage



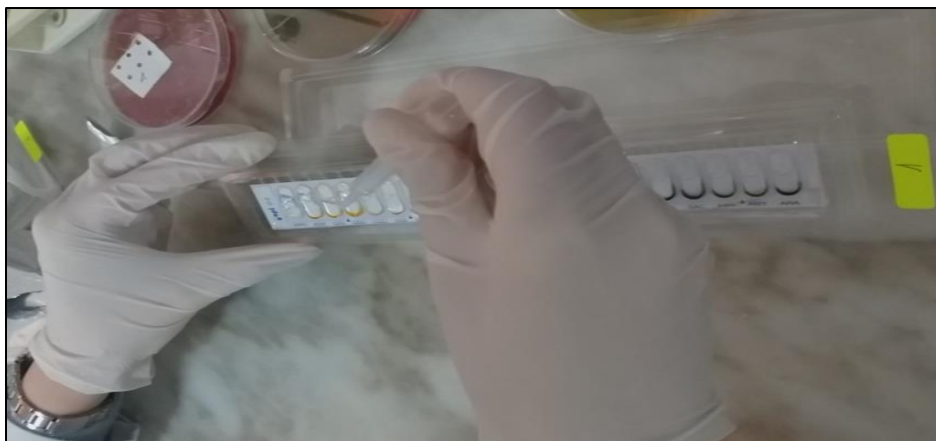
**Annexe 6 : Les organes prélevés**



**Annexe 7: Ensemencement des tests biochimiques**



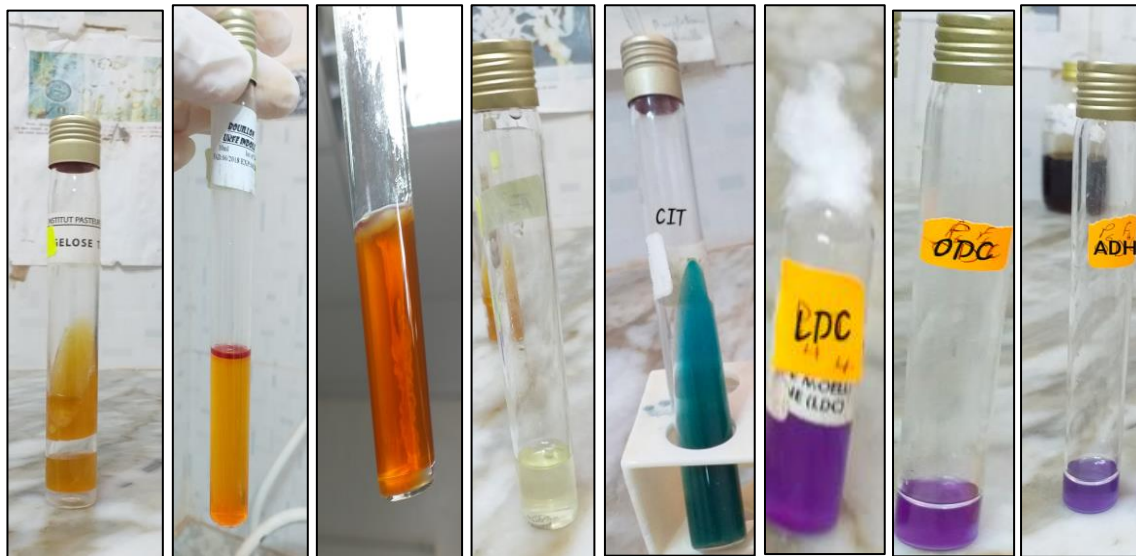
**Annexe 8 : Inoculation de la galerie API 20 E**



**Annexe 9: Antibiogramme**



**Annexe 10 : Aspect des tests positifs**



TSI (+)    IND (+)    MAN / MOB (+)    ONPG (+)    CIT (+)    LDC (+)    ODC (+)    ADH (+)

## Annexe 11: Résultats d'identification biochimique classique

TSI	H <sub>2</sub> S	Citrate de	Manitole	Mobilité	URÉE	IND	ONPG	ODC	LDC	ADH	Bactérie suspecte	Nombre de souches
+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	<i>Enterobacter Cloacea</i>	02
+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	<i>Enterobacter Interminus</i>	02
+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Proteus penneri</i>	02
+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>	01
+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>E coli</i>	18
+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Klebsiella pneumonia</i>	02
+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	<i>Citrobacter koeri/farmeni</i>	01



Annexe 12: Tableau d'identification des germes par la galerie API 20E.

API 20 E	V4.1	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>Butyrivibrio fermentans</i>		100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	92	99	100
<i>Cedecea davisae</i>		99	89	0	99	75	0	0	0	0	89	0	100	100	10	0	0	100	0	100	1
<i>Cedecea lapagei</i>		99	99	0	0	75	0	0	0	0	90	0	100	99	0	0	0	0	1	100	1
<i>Citrobacter braakii</i>		50	45	0	99	75	81	1	0	4	0	0	100	100	1	100	100	1	91	99	99
<i>Citrobacter freundii</i>		90	24	0	0	75	75	1	0	1	0	0	100	99	25	99	99	99	82	40	99
<i>Citrobacter koseri/amalonicus</i>		99	75	0	100	97	0	1	0	99	0	0	100	100	25	99	99	1	1	98	99
<i>Citrobacter koseriformeri</i>		99	2	0	100	25	0	1	0	99	0	0	100	100	1	99	99	99	80	99	99
<i>Citrobacter youngae</i>		100	50	0	1	80	80	0	0	1	0	0	100	100	0	95	100	1	0	25	100
<i>Edwardsiella hoshinae</i>		0	0	100	99	50	94	0	0	99	0	0	100	100	0	0	1	100	0	0	1
<i>Edwardsiella tarda</i>		0	0	100	99	1	75	0	0	99	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>		99	0	99	98	82	0	1	0	0	85	0	99	99	99	99	99	99	99	99	99
<i>Enterobacter amnigenus 1</i>		99	25	0	99	40	0	0	0	0	75	0	100	100	0	1	100	99	99	99	99
<i>Enterobacter amnigenus 2</i>		99	80	0	99	80	0	0	0	0	75	0	100	100	0	99	100	1	99	99	99
<i>Enterobacter asburiae</i>		100	25	0	99	80	0	0	0	0	10	0	100	99	25	100	0	99	0	100	100
<i>Enterobacter cancerogenus</i>		100	75	0	99	99	0	0	0	0	89	0	100	100	0	1	100	1	1	100	100
<i>Enterobacter cloacae</i>		98	82	1	92	90	0	1	0	0	85	0	99	99	12	90	85	96	90	99	99
<i>Enterobacter gergoviae</i>		99	0	32	100	75	0	99	0	0	90	0	100	99	23	1	100	99	100	99	100
<i>Enterobacter intermedius</i>		99	0	0	99	1	0	0	0	0	2	0	100	97	0	88	99	40	100	99	99
<i>Enterobacter sakazakii</i>		100	96	0	91	94	0	1	0	25	91	10	100	100	75	8	99	99	99	99	99
<i>Escherichia coli 1</i>		90	1	74	70	0	1	3	0	89	0	0	99	98	1	91	82	36	75	3	99
<i>Escherichia coli 2</i>		26	1	45	20	0	1	1	0	50	0	0	99	90	1	42	30	3	3	1	70
<i>Escherichia fergusonii</i>		96	1	99	100	1	0	0	0	99	0	0	100	99	1	0	87	0	1	99	99
<i>Escherichia hermannii</i>		100	0	1	100	1	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	99	25	0	99	99
<i>Escherichia vulneris</i>		100	30	50	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99
<i>Ewingella americana</i>		98	0	0	0	75	0	0	0	0	95	1	99	99	0	0	1	0	1	50	1
<i>Hafnia alvei 1</i>		75	0	99	98	50	0	10	0	0	50	0	99	99	0	1	99	0	0	25	99
<i>Hafnia alvei 2</i>		50	0	99	99	1	0	1	0	0	10	0	99	98	0	1	1	1	0	0	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>		99	0	80	0	89	0	78	0	99	80	0	100	100	99	100	99	99	100	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i>		94	18	25	1	18	0	1	0	0	1	0	99	96	57	66	58	20	80	97	85
<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>		99	0	73	0	86	0	75	0	0	90	0	100	99	99	99	99	99	99	99	99
<i>Klebsiella pneumoniae ssp rhinoscleromatis</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	90	75	75	1	99	10
<i>Kluyvera spp</i>		95	0	25	99	60	0	0	0	80	0	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99
<i>Leclercia adedecarboxylata</i>		99	0	0	0	0	0	1	0	99	0	1	100	99	0	2	100	66	99	99	100
<i>Moellerella wisconsinensis</i>		97	0	0	0	40	0	0	0	15	1	0	100	1	0	0	0	100	99	0	0
<i>Morganella morganii</i>		1	0	10	98	1	1	99	93	99	0	0	99	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Pantoea spp 1</i>		85	1	0	0	13	0	1	0	1	9	1	100	99	1	26	1	98	26	59	61
<i>Pantoea spp 2</i>		99	1	0	0	99	0	1	0	53	62	4	100	99	36	82	90	98	81	99	99
<i>Pantoea spp 3</i>		99	1	0	0	21	0	1	0	1	86	15	100	99	34	1	97	93	23	65	97
<i>Pantoea spp 4</i>		86	1	0	0	29	0	1	0	59	1	1	99	100	10	32	99	72	89	99	99
<i>Proteus mirabilis</i>		1	0	0	99	50	75	99	98	1	1	82	98	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Proteus penneri</i>		1	0	0	0	1	20	100	99	0	0	50	99	0	0	0	0	100	0	1	0
<i>Proteus vulgaris group</i>		1	0	0	0	12	83	99	99	92	0	74	99	1	1	0	1	89	0	66	1
<i>Providencia alcalifaciens/rustigiani</i>		0	0	0	0	80	0	0	100	99	0	0	99	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Providencia rettgeri</i>		1	1	0	0	74	0	99	99	90	0	0	98	82	78	1	50	25	0	40	1
<i>Providencia stuartii</i>		1	0	0	0	85	0	30	98	95	0	0	98	3	80	0	0	15	0	0	0
<i>Rahnella aquatilis</i>		100	0	0	0	50	0	0	1	0	99	0	100	100	0	98	99	100	97	100	98
<i>Raoultella ornithinolytica</i>		100	0	99	99	99	0	85	0	100	65	0	100	100	99	100	100	100	100	100	100
<i>Raoultella terrigena</i>		100	0	99	6	52	0	0	0	0	75	0	99	99	99	99	99	100	100	100	99
<i>Salmonella choleraesuis ssp arizonae</i>		98	75	97	98	75	99	0	0	1	0	0	100	99	0	99	99	1	78	0	99
<i>Salmonella choleraesuis ssp choleraesuis</i>		0	15	99	99	6	64	0	0	0	0	0	100	99	0	98	99	0	20	0	0
<i>Salmonella ser.Gallinarum</i>		0	1	100	1	0	25	0	0	0	0	0	100	100	0	0	1	0	0	0	100



**Annexe 13:** La résistance et la sensibilité des entérobactérie aux antibiotiques.

ATB \ Souche	GEN	AMC	ENR	C	SXT	TE
<i>E coli 1</i>	S	R	R	S	R	R
<i>E coli 2</i>	S	R	R	S	R	R
<i>E coli 3</i>	S	R	R	S	R	R
<i>E coli 4</i>	I	R	S	R	R	R
<i>E coli 5</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 6</i>	R	R	R	S	S	S
<i>E coli 7</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 8</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 9</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 10</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 11</i>	S	R	R	S	R	R
<i>E coli 12</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 13</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 14</i>	S	R	R	I	R	R
<i>E coli 15</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 16</i>	S	R	R	R	R	R
<i>E coli 17</i>	S	R	R	S	R	R
<i>E coli 18</i>	R	R	R	S	S	R
<i>Proteus penneri</i>	S	R	R	R	R	R
<i>Proteus penneri</i>	S	R	R	R	R	R
<i>Proteus mirabilis</i>	S	R	I	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia</i>	S	R	R	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia</i>	S	R	I	R	R	R
<i>Enterobacter Cloacea</i>	S	R	S	S	S	R
<i>Enterobacter Cloacea</i>	S	R	S	S	S	R
<i>Enterobacter Intermidus</i>	S	R	R	R	R	R
<i>Enterobacter Intermidus</i>	S	R	R	R	R	R
<i>Citrobacter koeri/farmeri</i>	S	R	R	R	R	R

R :Résistante / S :Sensible / I :Intermédiaire

**Annexe 14 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour enterobactéries (médecine vétérinaire)**

Antibiotiques testés	Charges des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline - Toutes espèces animales  - Chien : <i>Escherichia coli</i>	10µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8
	-	-	-	-	≥1	0,5	≤0,25
Amoxicilline+ Acide clavulanique*	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4
Céfalotine	30 µg	14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Céftiofur	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥8	4	≤2
Néomycine	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16
Gentamicine**  - Espèce canine  - Espèce équine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2
		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2
Sulfisoxazole	300 µg	≤12	13-16	≥17	≥512	-	≤256
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4
Acide nalidixique/ fluméquine	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	-	≤16
Acide oxolinique	10 µg	≤17	-	≥20	>4	-	≤2
Enrofloxacin Espèce Aviaire (poulet et dinde)	5 µg	≤16	17-20	≥21	≥2	0,5-1	≤0,25
		≤16	17-22	≥23	≥2	0,5-1	≤0,25
Espèce féline et canine		≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5
Marbofloxacin (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 µg	≤14	15-19	≥20	≥4	2	≤1
Danofloxacin (espèce bovine)	5 µg	-	-	≥22	-	-	≤0,25
Colistine	10 µg	-	-	-	>2	-	≤2
Nitrofurantoïne**	300 µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32
Chloramphénicol**	30 µg	≤12	13-17	≥18	32≥	16	≤8

**Résumé :**

L'antibiorésistance est un phénomène en évolution permanente qui concerne l'ensemble du monde bactérien et toutes les familles d'antibiotiques thérapeutiques. Ce travail vise à déterminer le profil de résistance aux antibiotiques de certaines entérobactéries d'origine aviaire prélevées dans la région d'Ain Témouchent. 28 souches d'entérobactéries ont été isolées à partir de différents poulets de chair dont 18 isolats *E coli*, 02 *klebsiella pneumonia*, 04 *Enterobacter*, 03 *Proteus* et 01 *Citrobacter*. Ces souches présentent des profils de résistances différents. Des pourcentages très élevés sont obtenus pour l'amoxicilline + acide clavulanique (100%), tétracycline (96,4%), le trimethoprim sulfamethoxazole (85,7%), enrofloxacin (82,1%), chloramphénicol (64,2%) et une très faible résistance à la gentamicine (7,1%). 100% des isolats étaient résistants à au moins deux antibiotiques et 53,5% des souches étaient résistants à cinq (5) antibiotiques différents. Cette antibiorésistance est alarmante et responsable de pertes économiques considérables (chute de production et de productivité), au niveau des élevages avicoles à cause de l'échec de traitement d'une part, elle présente un énorme risque pour la santé humaine, suite à la transmission des bactéries résistantes vers ce dernier (directement ou par les aliments).

**Mots clés :** Entérobactéries - antibiotiques- aviaire- Antibiorésistance

**Abstract :**

Antibiotic resistance is a constantly evolving phenomenon that affects the entire bacterial world and all families of therapeutic antibiotics. This work aims to determine the antibiotic resistance profile of some enterobacteria of avian origin taken from the region of Ain Témouchent. 28 enterobacteria strains were isolated from different broilers including 18 *E. coli*, 02 *klebsiella pneumonia*, 04 *Enterobacter*, 03 *Proteus* and 01 *Citrobacter* isolates. These strains have different resistance profiles. Very high percentages are obtained for amoxicillin + clavulanic acid (100%), tetracycline (96.4%), trimethoprim sulfamethoxazole (85.7%), enrofloxacin (82.1%), chloramphenicol (64.2%) ) and very low resistance to gentamicin (7.1%). 100% of the isolates were resistant to at least two antibiotics and 53.5% of the strains were resistant to five (5) different antibiotics. This antimicrobial resistance is alarming and responsible for considerable economic losses (fall in production and productivity), at the level of poultry farms because of the failure of treatment on the one hand, it presents a huge risk to human health, following the transmission of resistant bacteria to the latter (directly or through food).

**Key words:** Enterobacteria - antibiotics - avian - Antibiotic resistance

**ملخص**

مقاومة المضادات الحيوية هي ظاهرة تتطور باستمرار وتؤثر على العالم البكتيري بكامله وعلى جميع عائلات المضادات الحيوية العلاجية. يهدف هذا العمل إلى تحديد صورة مقاومة المضادات الحيوية لبعض أنواع بكتيريا الأمعاء من أصل الطيور المأخوذة من منطقة عين تموشنت. تم عزل 28 سلالة من بكتيريا الأمعاء من مختلف الدجاج بما في ذلك 18 عزلة *E* القولونية ، 02 *klebsiella pneumonia* ، 04 *Enterobacter* ، 03 *Proteus* ، 01 *Citrobacter*. هذه السلالات لها ملامح مختلفة المقاومة. يتم الحصول على نسب عالية جدا لأموكسيسيلين + حمض كلافولانيك (100 ٪) ، التتراسيكلين (96.4 ٪) ، تريميتوبريم سلفاميثوكسازول (85.7 ٪) ، إنروفلوكساسين (82.1 ٪) ، كلورامفينيكول (64.2 ٪) ومقاومة منخفضة للغاية للجنتاميسين (7.1 ٪). 100 ٪ من العزلات كانت مقاومة لاثنين على الأقل من المضادات الحيوية و 53.5 ٪ من السلالات كانت مقاومة لخمسة (5) مضادات حيوية مختلفة. هذه المقاومة المضادة للميكروبات مزعجة ومسؤولة عن خسائر اقتصادية كبيرة (انخفاض في الإنتاج والإنتاجية) ، على مستوى مزارع الدواجن بسبب فشل العلاج من ناحية ، إنها تشكل خطراً كبيراً على صحة الإنسان ، في أعقاب انتقال البكتيريا المقاومة إلى الأخير (مباشرة أو من خلال الطعام).

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا الأمعاء - المضادات الحيوية - الطيور - مقاومة المضادات الحيوية.