

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC ALGERIENNE DE MOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de
Master

Filière: Biologie

Option: Microbiologie
Appliquée

Intitulé

Actualité de l'antibiorésistance chez les bétails en Algérie
(Les animaux d'élevage)

Présenter par:

Fenghour Djihad

Sidi Ali Nour el houda

Grimed Chahinez

Zitouni Amani

Membre de jury:

Dr. LABID Asma (MCA)

Présidente

Université 20 août 1955- Skikda

Dr. CHEKROUD Zohra (MCA)

Promotrice

Université 20 août 1955- Skikda

Dr. BECHIKAR Imane (MCA)

Examinatrice

Université 20 août 1955- Skikda

Année universitaire 2021/2022

Remerciements :

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donnée la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Nous tenons à exprimer toute nos reconnaissance à ma directrice de mémoire, Madame **Chekroud Zohra**. Nous les remercions de nous avoir encadrées, orientées, aidées et conseillées.*

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nos rencontrer et de répondre à nos questions durant notre recherches.

Dédicace

Tout au début, je tiens à remercier le bon dieu de m'avoir donné du courage et de la patience afin de réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes chers parents Salah et Samira, qui j'ai beaucoup aidés et soutenus durant toutes mes années d'étude.

A mes chères frères et sœurs, Roaya, Seifeddine, Mohamed AbdAlhalim, Loay Nour El Isslam, sans qui me vie n'auraient pas de sens.

A mes parents qui m'a élevé ma mère Djamila, mon père Zaghdoud, ma sœur Ibtissem.

A la mémoire de mes grands parents.

*A mon fiancé **Chemss Eddine Fekrache** qui m'aide moi a ma mémoire.*

A toutes ma famille paternelle et maternelle.

*A mes amies sans exception et surtout **Chaima, Choubaila, Chahinez.***

A la promotion MICROBIOLOGIE 2021/2022.

Djihad

Dédicace

*Je dédie ce travail à mon très cher père **Ahmed** le meilleur.*

*A ma très chère mère **Zohra** pour sa tendresse et son encouragement durant toute ma vie.*

*A mon super frère **Ferhat** et mes belles sœurs **Romaïssa** et **keltoum**.*

*A mes sœurs mariées **Bouchra**, **Amel**, **Hanane**, **Soumia** et leurs maris sans oublier leurs merveilleux enfants **Loudjain**, **Tawba**, **Abderahmane** et **Nazime** que dieux les protégé.*

*A mes amis proches **Iness** et **Amani**.*

A tous ceux que je connais et je les porte dans mon cœur amour et gratitude.

*Enfin, Je remercie le vétérinaire **Yakoub kameche** et **Malik** qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail.*

Nour

Dédicace

Je dédie mon travail à :

*A mon père **Abd EL Wahab**, merci pour ta patience, pour ton soutien infini, pour tes conseils, j'espère que je serais une source de fierté pour toi.*

*A ma mère **Saida**, aucun mot ne peut exprime ta valeur pour moi que Dieu te garde et te protège.*

*A mes frères **Mohamed, chemss Eddine** et sœurs **Asma, Nihed, Aya**.*

*A mon marie **Hamza**, pour la patience et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et à qui je voudrais exprime mes affections et mes grâces. Merci infiniment*

*A **wissame, Djihad, Chaima**, Merci les filles pour le temps passé à vos cotés, les bons moments passés ensemble à la fac me manquent déjà.*

*Sans oublier ma sœur **Nasira** pour ses grands efforts et conseils qu'elle nous accordé.*

Chahinez

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail

A

Mes très chers parents,

Pour leur amour, leurs encouragements et leurs sacrifices

Mes frères et ma sœur et toute ma famille

Mes amies **Touto, Nour, Aya, Hadil, Rayane et Amani,**

Amani

Sommaire

Remerciements

Dedicace

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1 : Infections Bactériennes

1- Définition de l'infection.....04

1-2 - les infections chez les bétails.....04

1-2-1- Infections fréquents chez les bovins04

1-2-1 -1- Brucellose04

1-2-1-2- Charbon.....04

1-2-2-3- Salmonellose04

1-2-2-4- Pneumonie interstitielle04

1-2-2-5- Pneumonie par fausse déglutition04

1-2-2- Infection fréquent chez les bovins et les caprins.....04

1-2-2-1- Mammites04

1-2-2-2- Salmonelloses05

1-4- Les traitements d'une infection05

2 - Les antibiotiques05

2-1- Historique05

2-2- Définition des antibiotiques.....05

2-3 - les classes et les cibles bactériennes d'antibiotiques06

2-3-1- Les caractères de classification06

2-3-2- Les familles des antibiotique07

2-3-3- Les familles des b-lactamines :	08
2-4- Utilisation des antibiotiques chez les animaux d'élevage	09
2-4-1- Listes des antibiotiques utilisables en médecines vétérinaires.....	10
2-4-2- Les quantités d'antibiotiques utilisés en vétérinaires.....	12
3- La résistance aux antibiotiques chez les bétails en Alger.....	12
3-1- Notion de spectre antibiotique.....	12
3-2- Définition de la résistance bactérienne aux antibiotiques	13
3-3- Origine et causes de la résistance bactérienne.....	13
3-4- Génétiques de la résistance bactérienne	13
3-5- L'impact de la médecine vétérinaire	14
3-6- L'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux et le développement de la résistance	14
4- La résistance antimicrobienne.....	15
4-1- Les types de la résistance des antibiotiques	15
4-1-1- Résistance Naturelle.....	15
4-1-2- Résistance Acquise.....	15
4-2- Mode d'action de la résistance aux antibiotiques.....	15
4-2-1- Par mutation achrosomique.....	16
4-2-2- Par mutation du gène.....	16
4-3- Mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	17
4-3-1- La synthèse des enzymes inactivant les antibiotiques.....	18
4-3-2- La modification de la cible des antibiotiques.....	18
4-3-3- Diminution de la perméabilité de la membrane en antibiotiques.....	18

Chapitre 02 : Méthode d'étude

1- Identification des souches bactériennes	20
1-1- API 20E et API 20N	20
1-2- Maladie-TOF-MS (Matrix-assisted Laser Desorption/Ionisation-Time-Of-Fight- Mass spectrometry)	22
1-2-1- Préparation de 1ml de la matrice MALDI :	22
1-2-2- Réalisation des dépôts sur cible MALDI :	22
2 - Antibiogramme :	23
3- Détermination de la concentration inhibitrice (CMI) :	25

3-1- Méthode par dilution	25
3-2- Méthode par diffusion	25
4- Préparation de L'ADN.....	26
4-1- Polymérase chaine réaction (PCR).....	27
4-2- Le principe de la PCR.....	27
4-3- Détection des produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose.....	27
5- Séquençage	28

Chapitre 03 : Actualités de l'antibiorésistance chez les bétails en Algérie

1- Actualité de l'antibioresistance chez les bétails en Algérie	30
1-1- Investigation des études réalisées en Algérie.	30
2- Les résultats des antibiotiques les plus élevés à la résistance bactériennes chez les bétails en Alger.....	33
Conclusion.....	36
Références	38

Résumé :

La résistance bactérienne aux antibiotique est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuse son émergence a été accéléré par le mauvaise usage des antibiotique chez les bétails.

Notre travail censure dans l'objectif d'étudier l'actualité de l'antibiorésistance chez les bétails en Algérie. Dans ce cadre, on s'est réfère aux 04 études faites ces 12 dernières années (2009, 2021), sur la résistance aux antibiotiques dans différents région du pays. Après l'identification des souches bactériennes par l'AP120E , AP120NE et MALDI - TOF , la sensibilité des souches aux antibiotiques a été testée par la méthode de diffusion , des tests de détection phénotypique BLSE ont été effectués à savoir dle test de synergie , puis la détection moléculaire a été faite par extraction , amplification et séquençage de l'ADN .D'après les résultats de notre recherche *E. Coli* nous constatons les fammilles de béta lactames a la plus haute résistance aux bactérie *E.* et *S. aureus* et les gènes les plus résistantes aux antibiotique *mecA* (100%), *tetM* (100) *blaZ* (42,85%).

Mots clé :

Antibiorésistance, Antibiotique, B-Lactamases, Gènes de résistance, bétails.

ABSTRACT

Bacterial resistance to antibiotics appeared quickly after their introduction in the treatment of infectious diseases. Its emergence was accelerated by the misuse of antibiotics in livestock. Our work is part of the objective of studying the topicality of antibiotic resistance in cattle in Algeria. In this context, reference was made to the 04 studies carried out over the past 12 years (2009, 2021) on antibiotic resistance in different regions of the country. After identification of the strains After identification of the bacterial strains by AP120E AP120NE and MALDITOF, the sensitivity of the strains to antibiotics was tested by the diffusion method, ESBL phenotypic detection tests were carried out, namely the synergy test, then the molecular detection was made by extraction, amplification and sequencing of the DNA. According to the results of our research we note the families of beta lactams has the highest resistance to bacteria *E.Coli* and *S. aureus* and the most resistant genes to the antibiotic *mecA* (100%), *tetM* (100) *blaz* (42.85%).

Keywords:

Antibiotic resistance, Antibiotic, B-Lactamases, Resistance, genes,Livestock

المخلص

ظهرت المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية بسرعة بعد ادخالها في علاج الامراض المعدية. و تسارعت في ظهورها بسبب سوء استخدام المضادات الحيوية في الماشية. عملنا هو جزء من هدف دراسة موضوعية لمقاومة المضادات الحيوية في الماشية الجزائرية. في هذا السياق تمت الاشارة الى الدراسات الاربعة التي اجريت على مدى السنوات ال 12 الماضية (2009-2021) حول مقاومة المضادات الحيوية في مناطق مختلفة في البلاد. بعد التعرف على السلالات البكتيرية بواسطة MALDI-TOF و API20E API20NE. تم اختبار حساسية السلالات للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار. وتم اجراء اختبارات الكشف عن النمط الظاهري ل ESBL. اي اختبار التازر. ثم تم اجراء الكشف الجزيئي عن طريق استخراج الحمض النووي وتضخيمه وتسلسله. وفقا لنتائج بحثنا. نلاحظ ان عائلات بيتا لكتام لديها اعلى مقاومة عند بكتيريا الاشريشية القولونية و المكورات العنقودية والجينات الاكثر مقاومة للمضادات الحيوية تتمثل في *mecA* (100%). *tetM* (42.85%). *blaZ* (100%)

الكلمات المفتاحية

المقاومة البكتيرية المضاد الحيوي. بيتا لاکتاماز. جينات المقاومة البكتيرية, المواشي

Liste des abréviations :

% : Pourcentage.

C° : Le degré.

ADN : Acide desoxyribonucléiques.

AMC : Amoxicilline-Acide clavulanique.

AMP :Ampicillin.

AmpC : B-lactamasechromosomiques.

API 20 E : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries).

ARN : Acide ribonucléique.

ATB : Antibiotique.

C :Choramphenicol.

CIP : Ciprofloxacine.

CM : Clindamycine.

CT : Colistin.

E : Erythromycine.

ENR : Enrofloxacine.

F : Nitrofurantoin.

FOX : Céfoxitine.

GM : Gentamicine.

IPM : Imipénème.

K: Kanamycine.

KF:Cephalothine.

MALADI-TOF-MS:Matrix- Assisted Laser Desorption /Ionisation-Time-Of-Fight-Mass.

NA : Nalidixicacid.

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline.

SXT : Triméthoprim- sulfaméthoxazole.

TE : Tétracycline.

Liste des figures:

Figure 1 : Mécanismes d'action des antibiotiques, d'après « les médicaments antibiotiques en urologie	07
Figure 2 : Principaux antibiotique utilisables en médecine vétérinaire et leur caractéristique.....	11
Figure 3 : Evolution des ventes exprimées en tonnage de 1999 à 2002 des différentes familles d'antibiotique utilisation en médecine vétérinaire)	12
Figure 4 : Cible bactérienne et mécanisme de résistance aux antibiotiques)	19
Figure 5 : Protocole de l'ADN20E.....	21
Figure6 : Résistance aux antibiotiques dans les antibiogrammes réalisés	24
Figure 7 : électrophorèses sur gel d'agarose de la PCR ciblée sur le gène mecA	30

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Le tableau résumé les familles	08
Tableau02 : Mécanisme de résistance aux antibiotiques.	17
Tableau03: Identification de l'antibiorésistance chez les bétailles en Algérie	32
Tableau04 : La sensibilité aux différents antibiotiques des souches de <i>staphylocoques</i> isolées des mammites bovins	33
Tableau05: Pourcentage de résistance et de sensibilité aux antibiotiques chez <i>S. aureus</i>	34

Introduction

Introduction

Le phénomène de la résistance est développé suite à l'utilisation des antibiotiques. La résistance aux antibiotiques chez les animaux d'élevage a toujours été une préoccupation depuis des années. En effet, de plus quelle peut être la cause d'échecs thérapeutique en médecine vétérinaire, elle peut également poser un problème de santé publique, celui de la capacité de transférer cette résistance aux humains. Ce transfert est facilité par l'absence de barrière entre les populations bactériennes humaines et animales et par l'existence d'une similitude entre la plupart des familles d'antibiotiques utilisés en médecine humaines et vétérinaire (**Afssa ,2006**).

L'élevage. Cependant, les pratiques à risque en matière d'utilisation des antibiotiques provoquent plus de résistance que l'usage approprié. Ces pratiques sont directement incriminées dans l'augmentation des niveaux de résistance aux antibiotiques chez les différents agents pathogènes (**Chardon et al, 2014**).

A cet égard, différentes études ont signalé la mise en évidence des bactéries multi résistantes chez les animaux de compagnie, les animaux d'élevage ainsi que les aliments (Dierikx et al, 2013). La résistance des *Enterobacteraceae* aux – lactamines est de plus en plus fréquente et est habituellement associée a la production de B-lactamases (**Niumsuptal, 2017**). Ces bactéries ont également été signalées de plus en plus chez les bétails et les animaux de compagnie.

Les grandes organisations internationales ont émis des recommandations pour limiter le phénomène et la surveillance des résistances chez les bactéries d'origine animale, humaine et environnementale apparait indispensable. La surveillance de l'antibiorésistance, c'est-a-dire la collecte systématique de données permettant le suivi des niveaux de résistance des bactéries pour limiter l'usage des molécules présentant des niveaux élevés de résistance.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'aspect phénotypique et génétique de l'antibiorésistance chez les bétails en Algérie en déterminant :

Les bactéries antibiorisistantes les plus isolées des bétails en Algérie

Les familles d'antibiotiques les plus touchées par l'antibiorésistance chez les bétails

L'éventuelle présence de bactéries multirisistantes, BLSE, SARM

Les gènes impliqués dans l'antibiorésistance

Introduction

Le travail a été réalisé en reportant aux travaux déjà effectués en Algérie de 2009 à 2021.

Chapitre I

Infection bactérienne

1- Définition de l'infection

Le terme infection implique trois notions. La plus immédiate est celle de l'hébergement, par un hôte, de micro-organisme capable de se multiplier chez lui de façon exponentielle. La deuxième est celle de l'effet néfaste sur l'hôte des micro-organismes, c'est-à-dire leur pouvoir de provoquer des lésions et des troubles fonctionnels. La troisième notion est celle de persistance de marqueurs biologiques du passage des agents infectieux pathogènes. **(Bernard)**.

1-2- Les infections fréquentes chez les bétails :**1-2-1- Affection fréquent chez les bovins :**

1-2-1-1- Brucellose : maladie également réputée contagieuse progressivement éradiquée. Foyer sporadiques dans le massif symptomatique central et le sud en France **(Sylvie et al, 2004)**.

1-2-1-2- Charbon: toxique infection due à des bactéries telluriques anaérobies sporulées gazogènes gram positif dont le plus est *Clostridium chauvoei*. On rencontre aussi d'autres clostridies seules ou associées **(Fontaine, 1992)**.

1-2-2-3- Salmonellose :

Fréquent souvent épidémies après un stress (velage) ou infestation par la douve (s.dublin). Le germe provient de la nourriture, de l'eau ou de la pâture. portage particulièrement fréquent avec certains stéréotypes **(Sylvie et al, 2004)**

1-2-2-4- Pneumonite interstitielle Atypique :

Assez fréquent dans les 2 semaines qui suivent le transfert sur une nouvelle pâture, en automne, dans les troupeaux allaitants, chez les animaux âgés de plus de 2 ans **(Sylvie et al, 2004)**

1-2-2-5- Pneumonie par fausse déglutition :

La plupart du temps après administration forcée de médicament ou passage de la sonde **(Sylvie et al, 2004)**

1-2-2- Affection fréquent chez les ovins et les caprins :

1-2-2-1- Mammites : taux moyen d'animaux atteints en élevage ovin laitier 5% extension de l'infection dans l'élevage par l'intermédiaire des agneaux qui têtent la mauvaise

mère parfois des mouches ou de la machine à traire. L'ecthyma contagieux est un facteur prédisposant pour les mammites chez les caprins (Sylvie et al, 2004).

1-2-2-2- Salmonelloses : contamination par l'eau l'aliment d'autre animaux l'éleveur des oiseaux contaminés rare chez les caprins (Sylvie et al, 2004).

1-3- Les traitements d'une infection :

L'administration d'antibiotiques à des doses thérapeutiques ou subthérapeutiques à des animaux à risque de développer la maladie. Cela ne devrait être qu'une mode d'utilisation des antibiotiques limitée à des contextes bien précis et exceptionnels, ainsi seul le traitement au tarissement pourrait encore faire partie de ce mode d'utilisation, Le traitement ne devrait être appliqué qu'après un examen clinique de l'animal malade, par un vétérinaire compétent et autorisé. Pendant le traitement, il faut s'assurer que l'animal reçoive toute la dose recommandée et que la période de retrait soit respectée. La période de retrait correspond au moment où le produit de l'animal traité ne doit pas être consommé. Le non - respect de cette période augmente le niveau de traces d'antibiotiques détectables, et qui aboutissent dans la chaîne alimentaire humaine (Phillips et al, 2004).

2 - Les Antibiotiques :

2-1- Historique:

Depuis la du XXXème siècle, le nombre de résistance bactériennes aux antibiotiques ne cesse d'augmenter alors que l'arsenal thérapeutique stagne .En médecine vétérinaire, il n'ya pas eu de découverte de nouvelle classe antibiotique depuis les années 1980.l'antibiorésistance est devenue au XIème siècle un véritable problème de santé animale mais également de santé publique. la seconde partie débute par une sensibilisation du vétérinaire à l'impact de l'antibiorésistance animale sur la santé publique par l'intermédiaire de contact direct, de l'alimentation ou de l'environnement. (Bradley et al 2004)

2-2- Définition de l'antibiotique :

Un antibiotique est une substance originellement produite par un microorganisme qui à faible concentration, inhibe la croissance ou détruit certaines bactéries.

Les antibiotique sont obtenus naturellement à partir à moisissures ou reproduits synthétiquement, partiellement ou totalement.

Il y a plusieurs grandes familles d'antibiotique à des propriétés particulières en ce qui concerne son mode d'action, les bactéries qui lui sont sensibles et sa diffusion dans l'organisme. **(Bernard)**.

2-3- classes et cibles bactériennes des antibiotiques :

2-3-1- les caractères de classification :

La classification des antibiotique peut se faire selon :

- ❖ **L'origine :** élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- ❖ **Le mode d'action :** paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques, synthèse des folates.
- ❖ **Le spectre d'activité :** liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- ❖ **Effet :** Antibiotiques bactéricides ou bactériostatiques.
- ❖ **La nature chimique :** Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle B- lactame). La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (B- lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc) **(Mohammedi ,2007 . Ndiaye, 2005)**

Chaque classe d'antibiotique agit au moléculaire sue des cible indisponibles à la survie ou la croissance bactérienne.

Le mode d'action des antibiotiques dépend des cibles moléculaires qui peuvent se trouver dans la paroi ou le cytoplasme. Cinq modes d'action sont répertoriés **:(Cattoen ,2015)**

- Action sur la synthèse du peptidoglycane.
- Altération de la paroi.
- Action sur la synthèse des protéines.
- Action sue la synthèse des acides nucléiques.
- Action sur le métabolisme intermédiaire. **(Mérens et al, 2011) (Figure 01)**

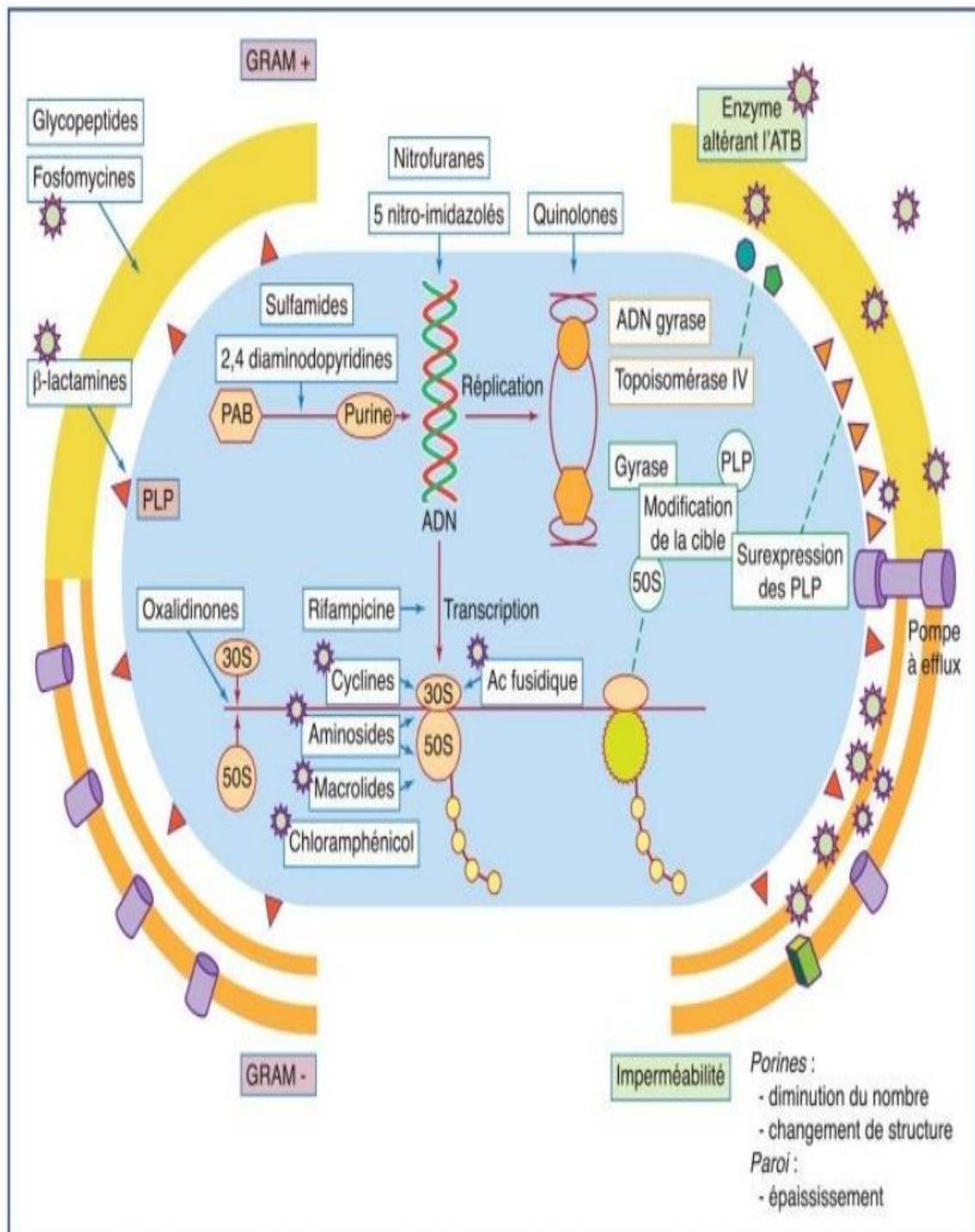


Figure 01 : Mécanisme d'action des antibiotiques, d'après « les médicaments antibiotiques en urologie (Chaussade2013).

2-3-2- Les Familles des antibiotiques :

Il existe plusieurs familles d'antibiotiques .Les principales sont les antibiotiques béta-lactamiques (ou béta lactamines) constituent la famille la plus diversifiée et la plus importante

parmi les antibiotiques, caractérisée par une activité bactéricide, avec un spectre d'activité d'étendue variable, centré sur les germes gram positive, de très faible toxicité mais à pouvoir allergène assez marqué.

2-3-3 - Les familles des bêta- lactamines :

Les bêta lactamines se caractérisent par la présence dans leur structure d'un cycle à 4 chaînons deux groupes d'importance inégale sont à distinguer :

Les pénicillines produites par moisissures du genre pénicillium.

Les céphalosporines, d'importance plus faible en médecine vétérinaire.

❖ Classification des pénicillines :

- D'après leur origine on peut séparer :

- Les pénicillines d'origine naturelle, obtenues par extraction.

Benzylpénicilline ou pénicilline G, chef de file des antibiotiques bêta lactamiques correspondant à l'appellation courante de pénicilline.

- Les pénicillines de semi synthèse obtenues par modification chimique des pénicillines naturelles.

- D'après leur structure chimique et leur activité, l'ensemble des pénicillines est regroupé en 3 catégories :

1) pénicilline du groupe G (type pénicilline G)

2) pénicilline du groupe M (type Méthicilline)

3) pénicilline du groupe A (type Ampicilline)

❖ Céphalosporines : sont d'importance secondaire actuellement en médecine vétérinaire, mais leur utilisation s'accroît du fait de leur spectre large.

exemples : Céfalexine, Céfalexine. (Fontaine, 1992). (Tableau 01)

Tableau 1 : Le tableau résumé les familles : (Ryan, 2018 ; Yao et al, 2007)

Famille	Antibiotique	Mode d'action	Cible	Origine
B Lactaminase	Pénicilline	de la synthèse de la	PLP	Naturelle

	Céphalosporine	paroi		Semisynthétique
Glycopeptides	Vancomycines Teicoplanine	Inhibition de la synthèse de la paroi	Les acides aminés	Naturelle Semisynthétique
Aminoacide	Streptomycine	Inhibition de la synthèse des protéines	Les ribosomes	Naturelle Semi synthétique
Macrolides	Erytramycine	Inhibition de la synthèse des protéines	La sous unité 50s du ribosome	Naturelle Semisynthétique
Tétracyclines	Doxyciline	Inhibition de la synthèse des protéines	La sous unité 30s du ribosome	Naturelle Semisynthétique
Phénicolés	Florfénicol, thia mphénicol	Inhibition de la polymérase	La sous unité 50S ribosome	Naturelle

2-4- Utilisation des antibiotiques chez les bétails :

Les antibiotiques peuvent être utilisés de quatre façons différentes, avec des objectifs variables (Schwarz et al, 2001).

1) les antibiotiques sont tout d'abord utilisés à titre thérapeutique curatif, l'objectif majeur est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. Le traitement a aussi pour effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (lait, viande). IL réduit l'excrétion bactérienne, permettant dans certains cas d'obtenir une guérison bactériologique et, lors d'infection zoonotique, il peut éviter la contamination humaine (Mckellar ,2001)

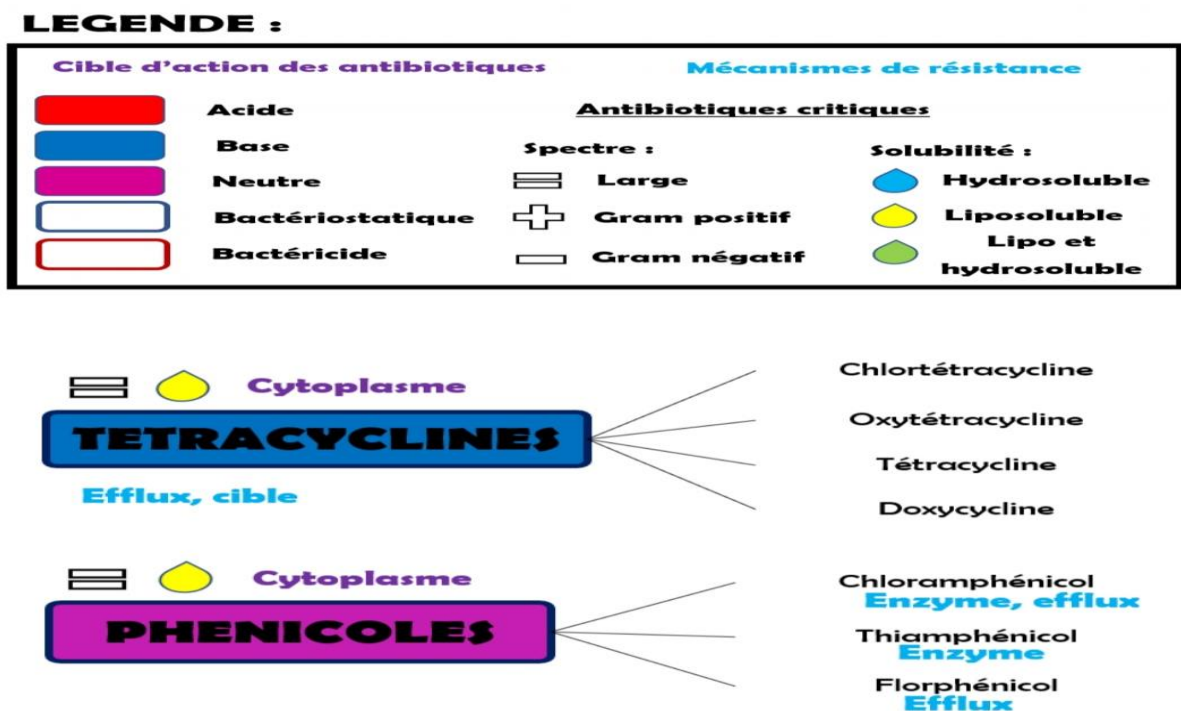
2) Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une bactérie, l'ensemble du groupe d'animaux est traité .Les sujets qui sont exposés mais ne présentent pas encore de signes clinique font donc l'objet d'un traitement en même temps que ceux qui sont déjà malades. (Millard, 2002).

3) Les antibiotique peuvent ,parfois ,être administrés à des périodes critiques de leur vie , sur des animaux soumis à un pression de contamination régulière et bien connue , après

contrôle de la nature de l'infection par des examens de laboratoire ,dans ces conditions on parle d'antibioprévention car le traitement permet d'éviter totalement l'expression clinique. cette modalité d'utilisation des antibiotiques est adaptée à un situation sanitaire donnée et doit être provisoire.

4) L'usage des antibiotique dans l'aliment à titre d'aditifs en vue d'améliorer la croissance a fait l'Object de nombreuses critiques, IL est très limité actuellement et sera totalement abandonné fin 2005, sont utilisés à des doses très faibles, non curatives et sont tous des agents chimiothérapeutiques non utilisés en médecine. (Bezoen, 1999) (Figure 02)

2-4-1-Liste des antibiotiques utilisable rn médecine vétérinaire :



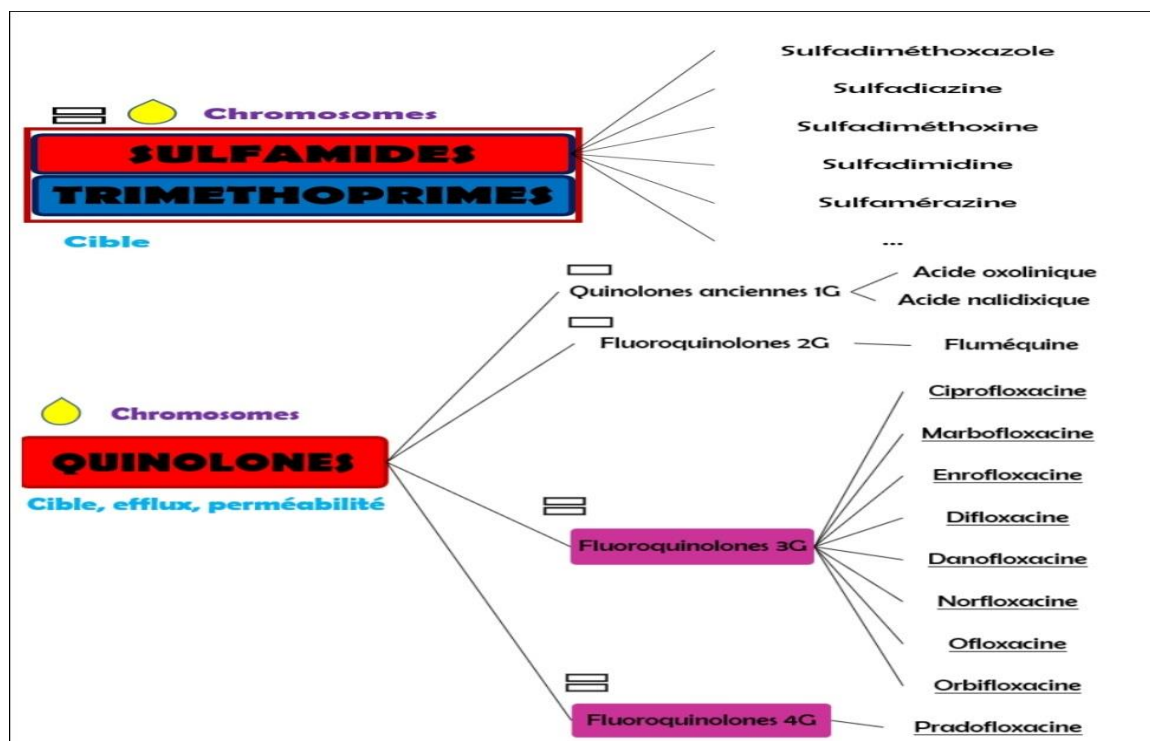
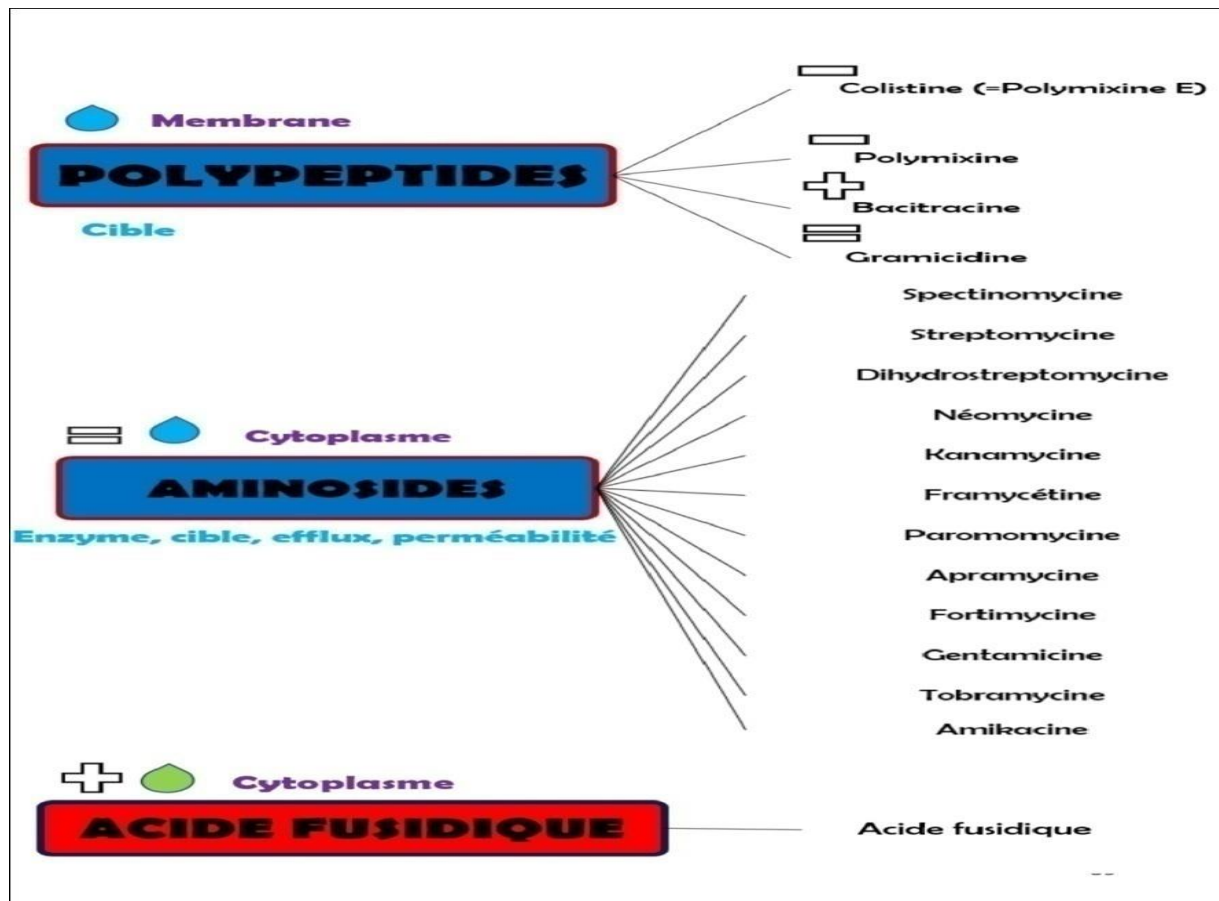


Figure2 : principaux antibiotique utilisables en médecine vétérinaire et leur caractéristique (Oie ,2015)

2-4-2-Les quantités d'antibiotiques utilisés en vétérinaires :

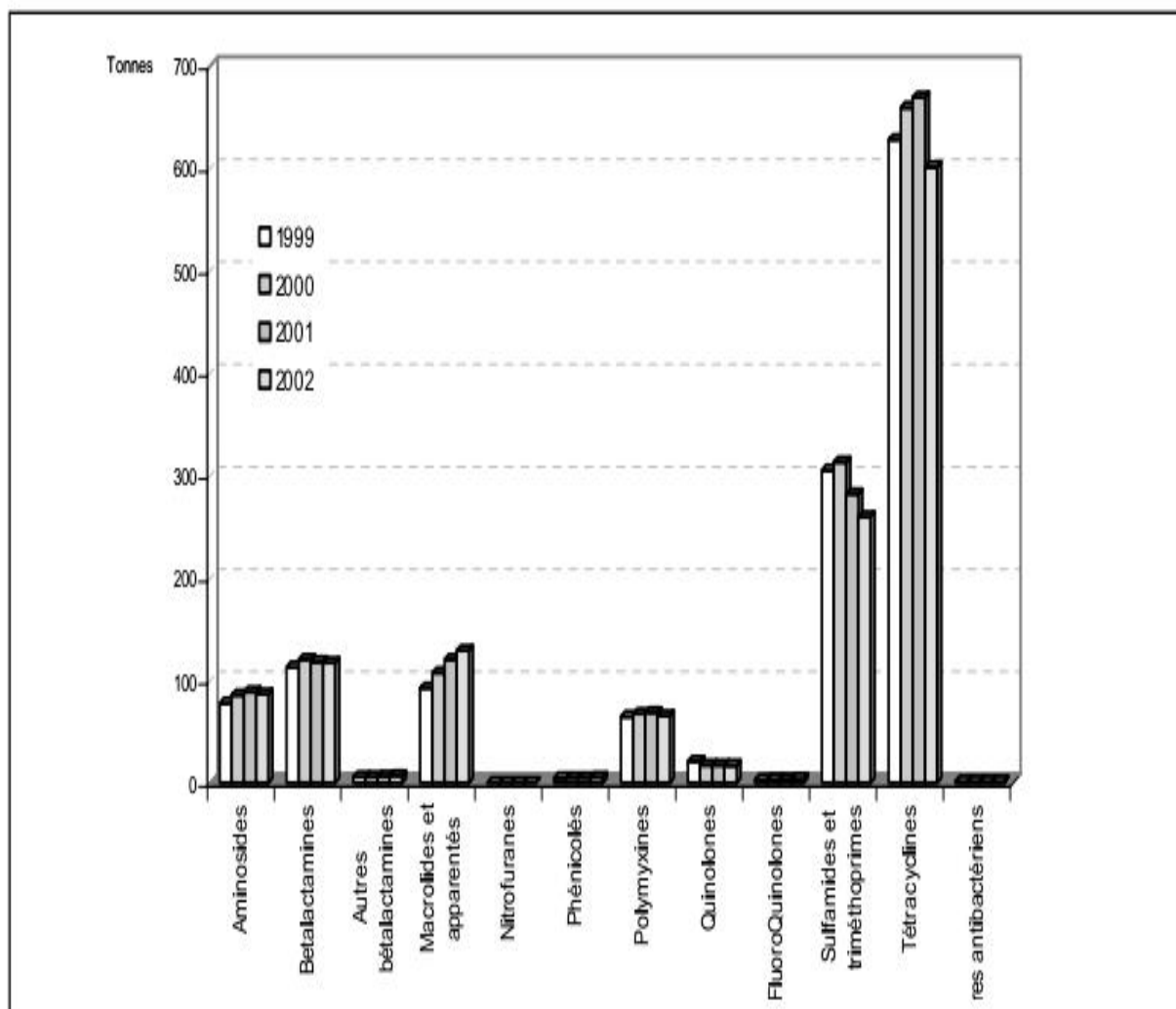


Figure03: Evolution des ventes, exprimées en tonnage de 1999 à 2002 des différentes familles d'antibiotiques utilisation en médecine vétérinaire (Afssal /ANMV 2004)

3- La résistance des antibiotiques chez les bétails en Alger :

3-1- Notion de spectre antibiotique :

Le spectre d'activité d'un antibiotique se définit comme l'ensemble des espèces de bactéries sensibles à un antibiotique, ce spectre peut être modifié selon que la souche ait acquis ou non une résistance.

La résistance naturelle est une caractéristique ubiquitaire de l'espèce, elle peut être due à l'absence de la cible, son inaccessibilité pour l'antibiotique, ou encore à la production

naturelle d'un mécanisme de défense. Ainsi certaines espèces bactériennes produisaient déjà des pénicillinases bien avant la découverte de la pénicilline.

En plus de cette résistance naturelle, certaines bactéries sont capables d'acquérir une résistance et de s'adapter à la toxicité des antibiotiques : on parle alors de résistance acquis. L'utilisation des antibiotiques va sélectionner des mutations génétiques aléatoires apportant une résistance et un avantage à la souche bactérienne en présence de l'antibiotique. Certaines bactéries échangent spontanément ces gènes de résistances avec d'autres bactéries proches. Ainsi, l'apparition actuelle de souches ayant des résistances acquis est une adaptation à l'utilisation des antibiotiques. Certaines espèces de bactéries sont capables de développer rapidement des résistances vis-à-vis des antibiotiques, c'est-à-dire qu'ils seront moins efficaces aux concentrations atteignables en thérapeutique (**Drancourt, 2016**).

3-2- Définition de la résistance bactérienne aux antibiotiques :

La résistance d'une bactérie à un antibiotique peut prendre deux formes : naturelle ou acquis. Une bactérie peut être résistante à un antibiotique naturellement (exemple des mycoplasmes). Mais le fait d'exposer les bactéries a un antibiotique a dose faible, dans des conditions où elles ne sont pas totalement éliminer, contribue a la sélection de bactérie résistant. La résistance peut donc être aussi acquis (Livre de Maladies des bovins, Airiea, page 444). Une bactérie portant plusieurs gènes de résistance est connu comme multirésistance (**kumar et al, 2012**)

3-3- Origine et cause de la résistance bactérienne :

La résistance aux antibiotiques est aussi ancienne que les antibiotiques eux-mêmes, et pour partie antérieure à leur utilisation par l'homme. La majorité des antibiotiques est dérivée de composés naturels produits par des micro-organismes qui sont en concurrence depuis des millions d'années avec des bactéries. Il s'ensuit que les bactéries exposées a ces antibiotiques ont alors du développer des mécanismes de résistance, parfois contre les antibiotiques qu'elles même produisent. Ces gènes de résistances sont donc aussi vieux que les bactéries elles-mêmes, dont l'expression est maintenant favorisée par l'utilisation a grande échelle des antibiotiques. Des mutations ponctuelles peuvent se surajouter a ces gènes d'antibiorésistance. En 2016, une étude de Michel Drancourt, met en évidence des gènes de résistances aux bêtalactamines, aux macrolides, aux glycopeptides et aux tétracyclines à partir de tartre dentaire fossilisé (**Drancourt, 2016**)

3-4- Génétique de la résistance bactérienne :

Le matériel génétique d'une bactérie est constitué d'un chromosome unique et d'un ou de plusieurs plasmides facultatifs. Les gènes de résistance sont portés par du matériel génétique qui peut être chromosomique. Les bactéries se multiplient par scissiparité, ce qui implique que dans une lignée, le transfert est total pour les gènes chromosomique et partiel pour les plasmides.

La résistance chromosomique résulte d'une mutation, à la fois rare et aléatoire, transmissible à toute la lignée et permanente. Elle n'est pas provoquée par la présence de l'antibiotique mais elle provoque un avantage sélectif en sa présence. La probabilité de deux mutations simultanées est très faible, cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques (**Beinecke, 2016**)

3-5- L'impact de la médecine vétérinaire :

Les animaux sont aussi des gros consommateurs d'antibiotiques et leur utilisation sélectionne et dissémine dans l'environnement des bactéries résistantes. Ces antibiotiques appartenant aux mêmes classes que celles utilisées en médecine humaine, cette utilisation est responsable de résistance qui peut être croisées. D'après l'OMS, au moins 50% des antibiotiques produits dans le monde sont destinés aux animaux. Aux Etats-Unis, ces médicaments sont utilisés de façon systématique comme facteurs de croissance (The failure of the FDA ; 2012), une pratique interdite en Europe depuis 2006 (Règlement(ce) no 1831/2003 du parlement européen et du conseil du ; 22septembre 2003) , (Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa,2016) , avec notamment 5 promoteurs de croissance (zinc, bacitracine, spiramycine, tylosine, virginiamycine et etolaquinox) interdits dans l'alimentation animale. L'OMS, dès 2003, a officiellement incité les éleveurs à ne plus utiliser d'antibiotique comme facteur de croissance et à en user prudemment en thérapeutique (**Kapp, 2003**).

3-6- L'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux et le développement de la résistance :

L'utilisation d'antibiotiques dans la production animale est blâmée pour contribuer à la résistance bactérienne croissante aux antibiotiques chez les humains .Cependant, presque tous les microorganismes ciblés par les agents antimicrobiens possèdent la capacité d'y devenir résistants. Dans ce contexte, des lignées microbiennes résistantes apparaissent régulièrement

et il est reconnu qu'un usage accru, prolongé ou inapproprié des produits antimicrobiens est un facteur de risque d'apparition de cette résistance (**Kuipers et al, 2016**).

Selon Schwarz et al, (2001b) et Simonsen et al, (2004), la dynamique des populations de la résistance aux antibiotiques dépend des antibiotiques administrés ; la résistance est également influencée par un certain nombre d'autres facteurs, notamment :

- La disponibilité du préexistant des gènes résistant ;
- L'interchangeabilité des gènes de résistance et de leur activité fonctionnelle dans différents hôtes bactériens ;
- La pression sélective.

4- La résistance antimicrobienne :

4-1- Les types de la résistance antimicrobienne :

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses, Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multi-résistance

L'antibiorésistance se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique il existe deux types de résistance.

4-1-1- Résistance naturel :

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactériennes, elle fait donc partie de patrimoine génétique normal du germe (**Yala et al, 2001**)

4-1-2- La résistance acquise :

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capable de rendre les bactéries insensibles à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique, Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjonctif, ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (**Yala et al, 2001**)

4-2- Mode d'action de la résistance aux antibiotiques :

On oppose à la résistance naturelle, propriété d'espèce ou de genre, la résistance qui est une propriété de souche. Cette dernière correspond à la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce. Elle peut s'acquérir soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de matériel génétique exogène.

4-2-1- Résistance par mutation chromosomique :

Elle résulte d'une mutation ; C'est un phénomène rare, du au hasard, il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique) ; c'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques ;

La probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible ; Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques ; Elle est transmissible ; elle est permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie mère à bactérie fille) ; Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique (Yala et al, 2001)

4-2-2- Résistance par acquisition de matériel génétique exogène :

Il existe plusieurs mécanismes génétiques de la résistance, ce sont la transformation, la conjugaison, la transduction.

❖ La transformation :

Est le premier modèle connu de transfert de matériel génétique, certaines bactéries ont la possibilité de capter les molécules d'ADN exogène nues présentes dans leur environnement. Une fois absorbé l'ADN pourra être exprimé par les bactéries réceptrices. Le nombre de bactéries disposant de cette capacité de transformation est toutefois réduit (Munita et al, 2016).

❖ La conjugaison :

Il s'agit d'un transfert total ou partiel de matériel génétique (plasmide ou chromosome) suite à un contact entre deux bactéries : donatrice dite mâle F⁻ et réceptrice dite femelle F⁺, le facteur F (pour la fertilité), correspond à un plasmide conjonctif possédant notamment des gènes qui codent pour la synthèse de pili sexuels. Les pili sexuels, vont se comporter comme

des câbles d’amarrage d’une bactérie F+ à une bactérie F-, un plasmide est une petite molécule d’ADN circulaire capable d’auto-réplication et ne s’intègre pas au génome bactérien. Un plasmide peut contenir un ou plusieurs gènes de résistance. Les bactéries peuvent se transmettre des plasmides via un mécanisme appelé (conjugaison). La bactérie émettrice du plasmide développe un pilus au travers duquel l’ADN plasmidique est injecté dans la bactérie dans la bactérie réceptrice. La conjugaison peut avoir lieu entre bactéries de la même espèce ou d’espèces voisines (Munita et al, 2016)

4-3- Mécanisme d’action de résistance :

Il y a trois mécanismes principaux qui sont responsables de la résistance bactérienne aux antibiotiques. La synthèse d’enzyme inactivant les antibiotiques, et la modification de la cible des antibiotiques, et diminution de la perméabilité de la membrane bactérienne aux antibiotiques (Figure 4)

Tableau 2: Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les mécanismes de résistance sont variés, mais on peut les classer en trois catégories principales.

Catégories	Mécanismes	Familles concernées
Inaccessibilité à la cible blindage	Système actif d’efflux hors de la cellule	Tétracyclines, macrolides, pénicillines, quinolones, bêta- lactamines
	Diminution de la perméabilité	
Inactivation	Inactivation enzymatique de l’antibiotique	Bêta- lactamases, estérases (macrolides), phosphorylases (aminosides, macrolides) ,acétyltransférases(chloramphénicol)
Esquive ou camouflage	Modification / protection de la cible (par mutation ou voie enzymatique) Court circuit de voie métabolique utilisée.	Triméthoprim-sulfamides, tétracyclines, macrolides, bêta-lactamines, fluoroquinolones.....

4-3-1- La synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques :

C'est un des mécanismes les plus répandus et les plus efficaces pour les bactéries qui consiste se sécréter une enzyme capable d'inactiver l'antibiotique avant même qu'il ait pénétré dans la bactérie. Les antibiotiques concernés sont : les bêtalactamines, les MLS, les aminosides et les phécolones, les bêtalactamines sont en parallèle les enzymes capable de détruire les bêtalactamines et furent décrites un an avant la mise sur le marché de la pénicilline. Ce sont des enzymes vraisemblablement anciennes et dont l'existence précède largement l'utilisation de masse des antibiotiques (**D'Costa et al, 2001**).

4-3-2- La modification de la cible des antibiotiques :

Chaque antibiotique a pour rôle se fixer sur une cible cellulaire particulière (enzyme, ribosome, membrane cellulaire, paroi bactérienne...). Modifier cette dernière au niveau de sa production cellulaire sont des stratégies rendant de fait caduque l'action de l'antibiotique.

La mutation du gène codant la cible de l'antibiotique : ceci aura pour conséquence la production d'une protéine disposant d'une structure différente au niveau du site de fixation de l'antibiotique. Ce dernier interagira donc plus du tout avec la protéine cible (**Flosset al, 2005**).

La modification de la cible de l'antibiotique ; il n'est ici plus question d'une modification du gène codant mais d'une modification covalente post. Traductionnelle de la protéine cible ou d'une modification post. Transcriptionnelle d'un ARN. In fine la même résultat que le point précédent est obtenu : l'antibiotique interagit moins facilement ou plus du tout avec la cible modifiée (**Tohet al, 2007**).

4-3-3- Diminution de la perméabilité de la membrane aux antibiotiques :

Les bactéries gram négatif bénéficient d'une membrane externe dont le rôle est justement de limiter l'entrée dans la bactérie de molécules toxiques. La pénétration des antibiotiques dans ces bactéries est donc plus compliquée (**Nika do, 2003**). La diminution de la perméabilité membranaire peut également se faire en réduisant le nombre de pores membranaires conduisant ainsi à la quantité d'antibiotique entrant dans la cellule (**Plancock et al, 2002**).

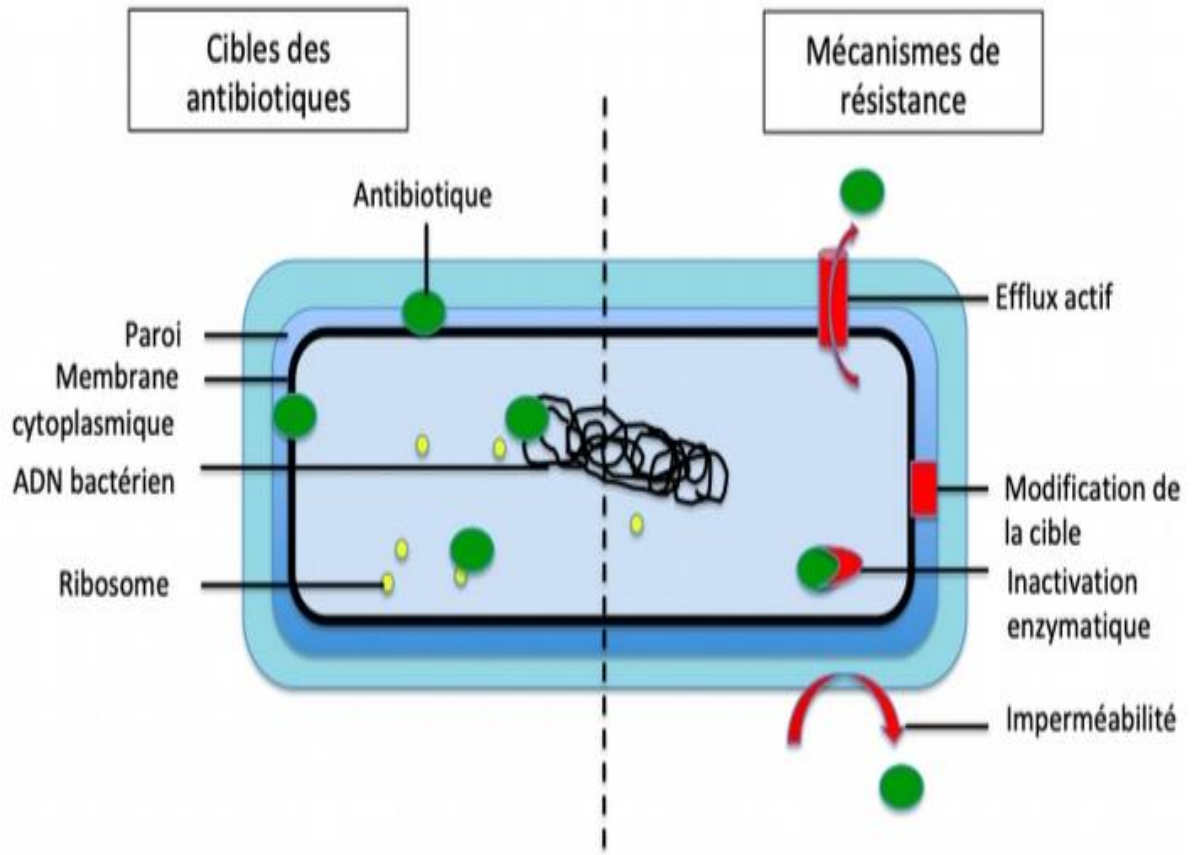


Figure 4 : cible bactérienne et mécanisme de résistance aux antibiotiques (Emile et al, 2019)

Chapitre II

Méthode d'étude

Parmi les bactéries résistantes aux antibiotiques et les plus répandues chez les

animaux d'élevage en Algérie on retrouve *Escherichia coli* et *staphylocoques aureus*

Les méthodes d'études des gènes responsables de l'antibiorésistance aux *Escherichia coli* et aux *staphylocoques aureus* partielles ont été inspirées des travaux réalisés en Algérie depuis 2014 jusqu'à 2020.

1- Identification des souches bactériennes :

L'identification peut se faire à l'aide de la galerie biochimique API 20 E pour les entérobactéries ou la galerie API20 NE pour les non entérobactérie et est confirmée par la méthode de MALDI _TOF MS.

1-1- Api20E et Api20 NE :

L'Api est un système miniaturisé pour l'identification des *Enterobactériaceae* API20E et API20 NE pour *P. Aeruginosa* et *A. Baumann*. Cette galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les micro tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. La lecture se fait à l'aide du tableau des réactions et l'identification est obtenue à l'aide d'un tableau d'identification (Coffin et al, 2006)

❖ Technique:

On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation avec la répartition d'environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, sans oublier d'inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. En effet, on retire la galerie de son emballage individuel et on la dépose dans la boîte d'incubation, puis on prépare l'inoculum bactérien: une colonie dans 5ml d'eau physiologique, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland. Pour inoculer la galerie, il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne, et pour les autres tests; on va remplir uniquement les tubes (et non les cupules) avec la création d'une anaérobiose dans les tests: ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule par l'huile de vaseline stérile. Enfin, on incube à 37 C° ± 1C° pendant 18-24 heures

❖ Lecture:

La lecture des galeries API 20E se fait selon les indications du fournisseur. Après codification des réactions en un profil numérique, on se réfère à un catalogue analytique où l'identification est donnée avec un pourcentage et une appréciation (L'agha, 2015) (Figure05).

1) Sélectionnez une colonie bien isolée pour faire une suspension saline de l'organisme inconnu. La suspension doit être bien dispersée avec un mélangeur Vortex.

2) Après avoir étiqueté l'onglet d'extrémité d'un plateau avec votre nom et numéro inconnu, distribuez environ 5 ml d'eau du robinet.

3) Placer une bandelette réactive API® 20E au fond du plateau humidifié. Assurez-vous de sceller le sachet d'où la bandelette de test a été retirée pour éviter la contamination des bandelettes restantes.

4) Distribuer une suspension saline d'organismes dans les cupules des 20 compartiments. Légèrement sous-remplie ADH, LDC, ODC, H2S et URE. Remplissez complètement les cupules de CIT, VP et GEL.

CH	APH	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
		+	-	+	+	-	-	-	+	-		-	+	+
5														

5) Pour fournir des conditions anaérobies aux chambres ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, remplissez complètement les cupules de ces chambres avec de l'huile minérale stérile. Utilisez une nouvelle pipette Pasteur stérile.

6) Après l'incubation et après avoir ajouté les réactifs de test à quatre compartiments, enregistrez tous les résultats et les nombres totaux pour arriver au code à sept chiffres. Consultez l'Index du profil analytique pour trouver l'inconnu.

Figure 5: protocole de l'API20E (Brown & Smith, 2015)

1-2- MALDI-TOF-MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization- Time-Of-Flight- Mass Spectrometry):

Le spectromètre de masse MALDI-TOF est un spectromètre utilisant une source d'ionisation laser assistée par une matrice et un analyseur à temps de vol. La méthode MALDI-TOF s'applique aux biomolécules fragiles comme les peptides, les protéines, les glycoprotéines et les oligonucléotides. L'échantillon est mélangé à la matrice et placé sur une lame. Le dépôt (ou spot) formé est appelé cible.

Une source laser est dirigée sur la cible afin d'ioniser les molécules de l'échantillon. Les ions sont ensuite détectés en mesurant le temps que mettent les différentes particules à atteindre le détecteur. La vitesse de chaque particule dépend du rapport masse/charge. Une fois l'ion arrivé au détecteur, le signal est amplifié et envoyé à un ordinateur qui traite les données et donne les résultats sous forme de spectre.

1-2-1- Préparation de 1 ml de la matrice MALDI :

- Dans un tube polypropylène 1,5 ml, introduire 2 pointes de spatules d'alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acide (HCCA).
- Ajouter 500 µl d'acétonurie HPLC.
- Ajouter 475 µl d'eau HPLC.
- Ajouter 25 µl de TFA (trifluoroacetic acid).
- Vortexer ou secouer vigoureusement.
- Sonique 10 min puis centrifuger 5 min à 13000 g.

1-2-2- Réalisation des dépôts sur cible MALDI :

- Déposer 2 spots de 1.5 µl témoin positif (T+) et recouvrir chaque dépôt de 1.5 µl de matrice saturée.
- Sur la ligne suivante même colonne, déposer 2 spots du témoin négatif (1.5 µl de matrice)

- Sur les lignes suivantes, déposer les échantillons en fine couche homogène en deux exemplaires minimum : prélever une petite quantité de colonies bactériennes différentes pour un même échantillon à l'aide d'une pointe de cône de pipette 10 µl.

- Une fois tous les dépôts effectués, déposer 1.5 µl de matrice sur chaque spot.

- Laisser sécher sous PSM puis introduire cette cible MALDI dans le spectromètre de masse Microfilme LT

- Démarrer l'ordinateur associé au spectromètre utilisé puis le logiciel Flex Control (Bruker Dalirntonics).

❖ Lecture :

Les résultats d'une cible sont exploitable seulement si les témoins T+ et T – sont valides :

T+ doit correspondre à *Escherichia Coli* avec un score 1,9

T- doit correspondre à un score sans identification 1,7

Le résultat d'identification des bactéries sont donnés, sous biotype RTC, par un score entre 0 à 3 (tab .2 .1) (Seng et al, 2010)

2- Antibiogramme :

La résistance aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de la diffusion en milieu gélosé, conformément aux indications EUCAST/CASFM. Chaque souche a été testée pour 10 antibiotiques.

L'antibiogramme est réalisé sur une gélose Mueller Hinton répartie uniformément dans les boîtes de pétri avec une épaisseur de 4 mm ± 0,5 mm. La technique d'antibiogramme comporte quatre étapes en suivant les indications EUCAST :

❖ Préparation de l'inoculum

Mise en suspension des colonies pures d'*E.coli* dans 10 ml eau physiologique. La turbidité de la suspension bactérienne soit équivalente à celle de l'étalon (opacité 0,5 Mc Farland).

❖ Ensemencement

Il consiste à déposer quelques gouttes de la suspension sur la surface de la gélose. Ensuite la suspension est étalée sur toute la surface du milieu de culture à l'aide d'un râteau, l'excès de la suspension est aspiré par une pipette pasteur.

❖ Dépôt des disques

Les disques d'antibiotiques sont alors déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince flambée. Les disques une fois déposés ne doivent pas être déplacés car l'antibiotique diffuse très rapidement autour de chaque disque.

❖ Incubation et lecture

La lecture s'effectue après 18 à 20 h d'incubation, elle consiste à mesurer les diamètres d'inhibition de la culture autour de chaque disque manuellement à l'aide d'une règle, puis les résultats sont interprétés selon les critères EUCAST et du comité de l'antibiogramme.

(EUCAST/CASFM ,2017) (Figure 06)

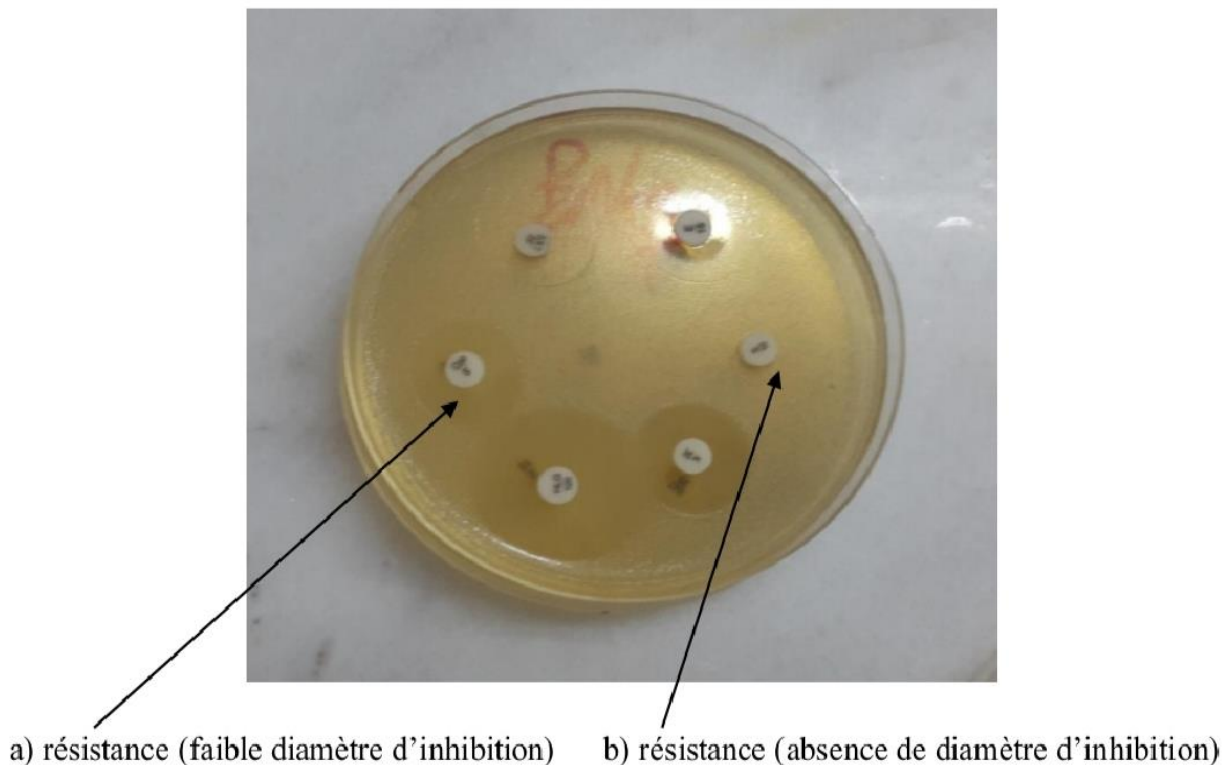


Figure 06 : Résistance aux antibiotiques dans les antibiogrammes

3- Détermination de la concentration inhibitrice (CMI) :

Une bactérie est considérée résistante lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est devenue supérieure que celle qui inhibe la quasi-totalité des souches de même espèces (Carle, 2009, Sanders et al, 2011).

La CMI c'est la concentration la plus basse en antimicrobien capable inhiber toute croissance bactérienne visible après 18 à 24 heures de culture à 37 C° (Sandres et al, 2011, Mylaert et al, 2012).

❖ Mesure

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est déterminée principalement par deux techniques :

3-1- Méthode par dilution

Consiste à mesurer la concentration minimale inhibitrice d'une souche bactérienne en inoculant des milieux liquides ou des géloses contenant des concentrations croissantes en antibiotiques (0.12 µg/ml, 0.25 µg/ml, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml) , Une boîte de gélose ou un bouillon de contrôle sans antimicrobien doit toujours être compris. Une exception faite pour deux antibiotiques les sulfamides et le triméthoprime, où une réduction de 80% de la croissance par rapport au témoin constitue une inhibition (Sanders et al, 2011)

3-2- Méthode par diffusion

Il existe deux types de tests de diffusion :

La diffusion selon la méthode de Kirby-Bauer ou la méthode des **disques de diffusion**, elle est couramment utilisée par les laboratoires pour la réalisation des antibiogrammes. Des disques de papier filtre imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés sur des boîtes de pétri contenant la gélose Mueller-Hinton de 4 mm ± 0.5 mm d'épaisseur ; préalablement ensemencé avec une culture pure (opacité 0,5 Mc Farland) de la souche à étudier. Après incubation 16 à 20 h, une zone circulaire ou zone d'inhibition ; dépourvue de colonie peut être observé autour des disques d'antibiotiques, la CMI est déterminée en fonction du diamètre d'inhibition mesuré. (Rubin, 2013)

CA-SFM 2017).

- ❖ **E test** : ils s'effectuent de la même manière que les tests des disques, des bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique de faibles à hautes concentrations sont déposés sur la surface de la gélose Mueller-Hinton qui est déjà ensemencé avec la souche à étudier, les chiffres de concentrations d'antibiotiques imprimés en arrière de la bandelette correspondant aux valeurs de CMI. Après incubation, le sommet de la zone d'inhibition en forme d'ellipse indique la CMI de la souche bactérienne (**Rubin, 2013**).

4- Préparation de l'ADN :

L'ADN servant la matrice de l'amplification est préparé à l'aide du kit « Genoplus TM Genomic DNA Extraction Miniprep System » (Viogen, cat N° :GG2001) selon le protocole du fabricant.

❖ Protocole :

Les cultures de 18 h des bactéries dans un bouillon BHI (3ml) a été récolté par centrifugation à 7500 tours par minutes ((5000 x g) Pendant 10 minutes, et le culot est remis en suspension dans 160µl du tampon TE, puis ajouter 40 µl de la solution de lysozyme (100 mg / ml) et bien mélanger et incubée à 37C° pendant 30 minutes.

Le protéinase K (20 µl) et le tampon FX (150 µl) ont été ajoutés au mélange, introduits immédiatement au vortex pendant 20 secondes puis incubés à 60 C° pendant 40 minutes pour lyser les cellules bactériennes . L'utilisation du vortex toutes les 5 minutes Pendant l'incubation facilite la lyse.

Pour obtenir l'ADN génomique exempt d'ARN, 10 µl de 50 mg/ ml de RNase a été ajouter au mélange après l'incubation à 60C°, et incubé pendant 10 min au plus à température ambiante. Pendant ce temps, le préchauffage de 10 Mm de très -Hcl (ph 9,0) , ddH2O au du tampon TE à 70C° (500 µl /préparation) pour l'élution de l'ADN.

Le tampon FX (150 µl) puis l'éthanol (98-100%) (200 µl) ont été ajoutés en mélange et introduit au vortex.

Tous le mélange (y compris le précipité) a été pipeté dans une colonne placée dans un tube de collecte , sont touchés la jante, centrifugé à 8000 tours par minute(6000x g) pendant 2 min,

puis placée dans un nouveau tube collecteur, enfin laver deux fois avec 0,5 ml du tampon WS par centrifugation à 8000 tours par minute (6000 x g) pendant 2 minutes ; ainsi l'écoulement est éliminé. La colonne a été centrifugée à pleine vitesse (10 000 x g) pendant 2 min pour éliminer les résidus d'éthanol puis, placée dans un nouveau tube de 1,5 ml.

L'ADN est de nouveau élué avec 200 µl de la solution d'éluion préchauffée précédemment, et gardé dans une colonne pendant 1-5 minutes et, centrifugé pendant 1-2 minutes. L'ADN élué a été conservé à -20°C.

4-1- Polymérase chaîne réaction (PCR) :

La PCR est une méthode qui permet l'amplification enzymatique ciblée d'un fragment d'ADN (Ameziane et al, 2006)

4-2- Le principe de la PCR :

Selon (Gamier et al, 2011) la PCR repose principalement sur trois éléments :

- Le chauffage d'un ADN double brin jusqu'à moins 90°C permettant de le séparer en deux simples brins (étape de dénaturation) ;
- Après le chauffage et une séparation de l'ADN double brin en simples brins, un refroidissement progressif permettant une hybridation entre des séquences complémentaires (étape d'hybridation des amorces) ;
- La propriété de recopiage d'un brin cible à partir d'une amorce complémentaire hybridée sur le brin grâce à des ADN polymérases, enzymes thermostables (étape d'élongation).

4-3- Détection des produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose

Le principe de l'électrophorèse en gel d'agarose repose sur le fait que les acides nucléiques chargés négativement peuvent migrer dans un champ électrique, et permet la séparation des fragments d'ADN de différentes tailles (200_15000pb) à l'aide un champ électrique constant.

Le système de séparation utilisé est l'effet de filtration sur gel vitesse de migration d'une molécule d'acide nucléique sera fonction de deux paramètres : sa masse moléculaire (nombre de bases ou de paires de bases) et la concentration du gel.

Le gel d'agarose est un réseau complexe de polymère, composé d'agarose et d'un tampon aqueux. La taille des pores est déterminée par la composition de ce dernier et de par la concentration et le type d'agarose utilisé. Plus les pores du gel sont grands, plus la taille des molécules que le gel peut séparer est grande. L'ADN migre vers l'électrode chargée positivement dans la cuve d'électrophorèse.

La révélation est possible grâce au bromure d'éthidium (BUT), agent intercalant de l'ADN.

Lorsqu'on excite le BET par des ultraviolets (UV), celui-ci présente une fluorescence et l'ADN est visualisé sous forme de bandes (Gémier et al, 2011)

5- Séquençage de L'ADN :

Le séquençage d'échantillon positif, a été fait utilisant L'ABI PrismBigDyeTerminator v1.1 Cycle Séquençage Kit (AppliedBiosystems, USA) selon les indications du fournisseur.

❖ **Préparation de la réaction du séquençage :** La manipulation du mix pour la réaction du séquençage se fait comme une PCR standard dans une cuvette contenant de la glace pilée. IL est distribué dans des tubes Eppendorf numérotés à raison de 2 cupules pour chaque échantillon à chaque primer (Forward et reverse). Pour chaque échantillon un mix de 7ul plus le 0.5ul du reverse et un autre avec le forward

❖ Purification au Sephadex :

-Préparation d'une plaque de filtration 96 puits de marque millipore A1=Cup1
-Remplir les puits de la plaque avec la poudre Sephadex à l'aide d'un moule spécial
-Ajouter 300ul d'eau ultra-pure dans chaque puits. La plaque sephadex sera prête après 3h.

-Centrifuger à 1200g /2minutes 4C° en mettant une plaque collective (poubelle) au-dessous de notre plaque de purification pour récupérer les 300 ul d'eau. Le sephadex forme un gel pour la purification des produits de PCR.

-Ajouter 10ul de l'eau distillée dans chaque cupule contenant l'ADN (produits du Big Dye), prendre une plaque de récupération propre en respectant l'ajustement des lettres et numéros avec la plaque sephadex.

-Transférer les 20ul dans la plaque du sephadex et faire une deuxième centrifugation 1200g /2minutes4C°.

-Récupérer de l'ADN purifié au sephadex dans la plaque de récupération qu'on recouvre avec Septa (Caoutchouc perforé) et la déposer sur une autre plaque appropriée au séquenceur (**Sangeretal, 1977**)

CHAPITRE 03

Actualité de l'antibiorésistance chez les bétails en Algérie

1- Actualité de l'antibiorésistance chez les bétails en algérie :

1-1- Investigation des études réalisées en Algérie :

En 2014, Saidi et ses collaborateurs ont été identifié le phénotype et le génotype de la sensibilité aux antimicrobiennes in vitro de 21 staphylocoques (10staphylococcus aureus et 11coagulase négative staphylococcie). isolée de mastites bovins à 12 médicaments antimicrobiens fréquemment utilisés en médecine vétérinaire en Algérie. ont été testés pour les antibiotiques avec la méthode de diffusion sur disques selon les directives du national commette for clinicatlaboratoire standards dans la gélose meuler-Hinton, et les gènes résistants mecA , blaZ , aac-aph, ermA,ermC, tetk et tet Mont été détectées par PCR (Figure7) les isolats de staphylocoques ont montré haute résistance à la pénicilline (95.23%) ,à l'oxacilline(80,95%) ,à la clindamycine(80,95%, et à l' érythromycine (76 .19%), (SaidietAll ,2014). (Figure 07)

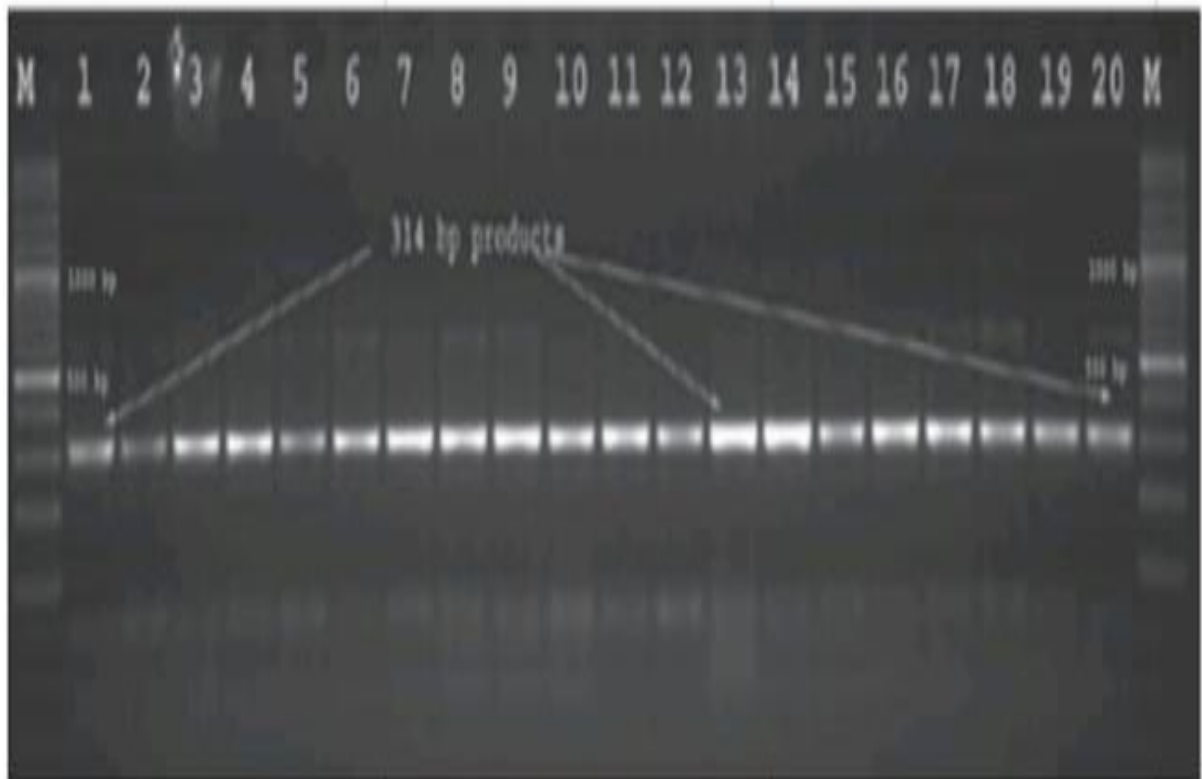


Figure07 : électrophorèse sur gel d'agarose de la PCR ciblée sur le gène mecA (saidi et al, 2014).

De 2009 à 2014 Saliha et al, ont pu isoler 465 échantillons d'origine bovine ont été prélevés dans différentes fermes privées de six gouvernorats différents situés dans le nord de

l'Algérie(Bouira, Boumerdes, Tizi-Ouzou, Bejaia, Bordj-Bou-Argeridj et Msila).Un coton-tige stérile a été inséré dans la cavité nasale à une distance fixe de 10 cm pour atteindre le méat ventral. Chaque échantillon sur écouvillon a été placé dans 3 ml d'un milieu de transport (bouillon d'enrichissement de *Staphylococcus*, Axonlab) sans antibiotique et transféré dans une glacière. L'analyse a été réalisée le même jour au laboratoire vétérinaire régional de l'Institut National de Médecine Vétérinaire (Tizi-Ouzou, Algérie).Les écouvillons nasaux ont été striés sur de la gélose au sang additionnée de sang de mouton à 7 % v/v et tous les milieux inoculés ont été incubés à 37 °C pendant 24 heures. La purification de la souche bactérienne a été réalisée sur gélose nutritive. Les souches bactériennes ont été identifiées sur la base des critères morphologiques, des caractères biochimiques, des tests d'agglutination (Kit Pastorex TM Staph-Plus, Laboratoires Bio-Rad, France) et du test de la coagulase du plasma de lapin (Bio-Rad). Toutes les souches bactériennes identifiées ont été conservées à -20°C dans un bouillon de soja Trypticase contenant 20 % de glycérol. Résistante à l'oxacilline ont été utilisées comme souches témoins. Douze disques antibiotiques différents ont été utilisés ; OXA, PEN, FOX, KAN, NEO, GEN, TCY, SXT, ENR, ERY, VAN.(Bounar et al, 2018).

En 2016, 2017, K. De ghnouche et ses collaborateurs ont pu isoler un total de 146 souches du groupe *E. coli* de la flore intestinale(AFEC). Batna le premier test d'orientation pour l'identification biochimique se faisant encore grâce aux galeries API20E. Utilisant 20 tests biochimiques (presscotte et al.2003). Par inoculer la galerie, il faut remplir cupules des testes CIT, VP et GEL avec une suspension bactérie d'opacité 0.5 sur l'échelle de Mac Farland. L'*E. coli* se pousse bien sur les milieux usuels permettant la croissance des bacilles Gram négatifs (CLED,BCP,Macconkey, hekton,ect)(Avril et al.1992,Hart et shears,1997, Delarras,2010,Denis et al.2011). La sensibilité aux Anti biotiques indique dans le tableau N°4C à été testée. la détection des gènes de résistance (TEM, CTX_M_15, arpA, prp C, groupe C trp Aa).

En2016, Barour et ses collaborateur, ont put isoler 198 souches de bovins ont été prélevé (écouvillonnés dans le rectum), élevés dans les fermes des gouvernorats de Souk Ahras, Tébessa et Oum el Bouaghi de l'Est algérienne. L'isolement des souches et d'*E.Coli* a été réalisé sur gélose Mac Conkeypuis les différentes souches ont été identifiées au niveau de l'espèce à l'aide d'un kit d'identification API 20E. les antibiotiques mentionnés dans le tableaux ont été testés par la méthode de diffusion sur gélose de Muller-Hénon. le teste synergie à double disque avec des disques céfotaxime et d'amoxicilline-clavulanate a été utiliser pour le dépistage des phénotypes des béta lactames à spectre étendu. Pour la

sensibilité à la colistine la concentration minimale inhibitrice a été examinée à l'aide de la technique des microdiluitions en bouillon. Les résultats ont montré que parmi les 198 souches isolées d'*E. coli*, des taux de résistance élevés ont été observés pour l'ampicilline (59,09%) et la tétracycline (43,43%) (Barour, 2019).

Tableau03 : Identification de l'antibiorésistance chez les bétails en Algérie

Etude	Régions/ Date	Souches	Prélèvements	Antibiotiques testés	Phénotype de résistance	Gènes testés	Gènes de résistance détectés	Référence
A	L'Algérie 2011_2013	21 souches staphylocoques (10 dorés et 11 staphylocoques à coagulase négative)	Mannites bovines (cavité nasale)	OXA, FOX, AMC, ENR, VAN, SXT, CM, GEN, TE, N, E	PEN, OXA, CM, E	BlaZ, mecA, aacA-aphD, Erm(c), tetK, TetM	mecA, TetM	Radwan et al, 2014
B	Nord de L'Algérie (Bouira, Boumerdes, Tiziouzou, 2009_2014)	465 échantillons d'origine Bovine (staphylocoques aureus) (MRSA)	Cavité nasale	OXA, VAN, FOX, KAN, ENR, ERY, NEO, PEN, OEN, TCY, SXT	OXA, FOX, PEN, TCY, ERY, NEO, KAN, ENR, ERY, NEO	//	MecA	bounerkachi et al, 2018
C	Batna 2020_2021	146 souches du groupe <i>E. coli</i>	La flore intestinale	Antibiogramme : AMP, AMC, DOX, CHL, AN, OFL, CIP	AMC, OFL, DOX, CHL, KN	DOX, OFL, AMO, CIP, NA	CTX_M_15, TEM, arpA, papC	K. D. Eghonoche, 2020

					CIP AMP	AMX	groupe C (trpAà	0 /202 1
D	Souk Ahras,te bssa,Ou m el bouaghi et l'est algérien2 016_201 8	198bovin s (<i>E. coli</i>)	écouvi llonna ge dans le rectum	AMP KF FOX TE CIP KF, AMC SXT , CIP F, K, C CTX , CN, NA	AMP, AMC, KF, CTX, FOX, K, CN, SXT ; TE, NA, CTP, F, C, CT			Bar our et all2 019

AMP : Ampicillin, AMC :Amoxicillin+clavulanate, KF : Cephalothin, CTX :cefotaxime, FOX :Cefoxine, K :Kanamycin, GN:Gentamycin, SXT : Trimethoprim/sulfamethoxazole, TE : Tétracycline, NA : Nalidixicacid, CIP : Ciprofloxacin, CT : Colistin, F : Nitrofurantoin, C : Chloramphenicol, PEN :Pénicilline, ENR : Enrofloxacin, VAN : Vancomycin ; CM : Clindamycin, N : Neomycin, E : Erythromycin, OXA : Oxacilline, CIP : Ciprofloxacin , F : Nitrofurantion,.

2- Les résultats des antibiotiques les plus élevés à la résistance bactérienne chez les bétails en Algérie :

-Les tests de sensibilité aux antimicrobiens ont rapporté une résistance élevée des souches de staphylocoques aux agents antimicrobiens qui a été confirmée par PCR par la présence du gène *mecA*. La distribution des gènes résistance aux antibiotiques était *mec A*(100%) et *terM* (100%) pour toutes les souches de staphylocoques qui étaient phénotypiquement résistantes à la céfoxitine et/ou à l'oxacilline.(tableau04)

Antibiotics	Total Profile Break Points	Staphylococci (n= 21 isolates: 10 <i>S. aureus</i> and 11 CNS)					
		Sensitive		Resistance		Intermediate Sensitive	
		Number	%	Number	%	Number	%
P	≤ 28-29 ≥	1	04.76	20	95.23	0	0
OX	≤ 10-13 ≥	4	19.04	17	80.95	0	0
FOX	≤ 24-25 ≥	7	33.33	10	47.61	4	19.04
AMC	≤ 19-20 ≥	7	33.33	14	66.67	0	0
ENR	≤ 16-23 ≥	19	90.47	2	09.52	0	0
VA	≥ 15	5	23.80	16	76.19	0	0
SXT	≤ 10-16 ≥	17	80.95	1	04.76	3	14.28
CM	≤ 14-17 ≥	4	19.04	17	80.95	0	0
GM	≤ 12-15 ≥	21	100	0	0	0	0
TE	≤ 14-19 ≥	13	61.90	8	38.09	0	0
N	≤ 13-18 ≥	20	95.23	1	04.76	0	0
E	≤ 13-23 ≥	2	09.52	16	76.19	3	14.28

Tableau4 : La sensibilité aux différents antibiotique des souches de *staphylocoques* isolées de mammites bovines (Siadi et al, 2014)

Les résultats ont montré que parmi les 198 isolats d ' E. coli , des taux de résistance élevés ont été observés pour l'ampicilline (59,09 %) et la tétracycline (43,43 %) , et des taux de résistance modérés pour la céphalothine (16,16 %) , le triméthoprime / sulfaméthoxazole (15,15 %) et amoxicilline / acide clavulanique (11,62 %) ; cependant , de faibles taux de résistance ont été observés pour l'acide nalidixique (8,08 %) , la ciprofloxacine (7,07 %) , la kanamycine (6,56 %) , le céfotaxime (4,54 %) , le chloramphénicol (4,04 %) , la nitrofurantoïne (2,52 %) , la céfoxitine (2,02 %) .. gentamycine (1,01 %) , et aucune résistance à la colistine .

(Figure 8)

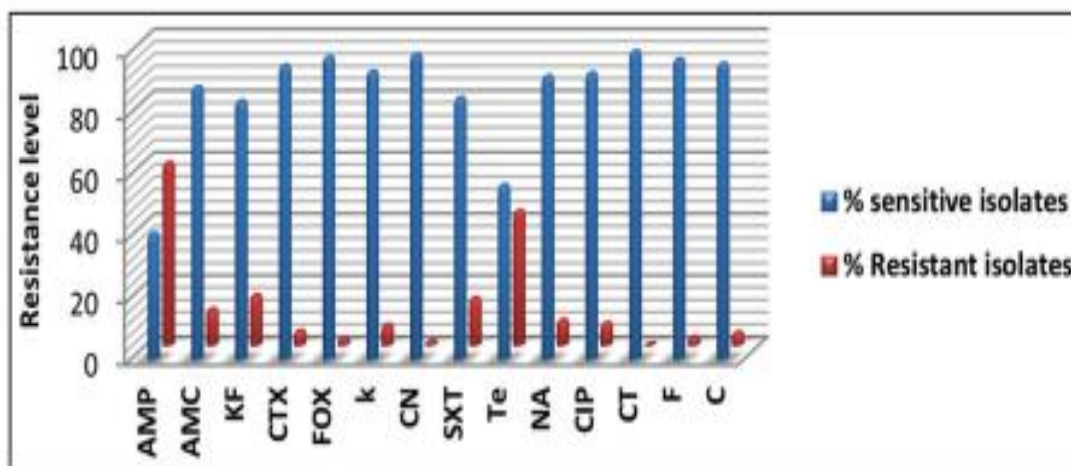


Figure08 : Fréquence de résistance aux antibiotiques chez Escherichia. Coli (Barour et al, 2019).

Toutes les souches isolées de *S. aureus* semblent présenter une résistance face à certains antibiotiques testés .un teaux de résistance de 87% pour la Enrofloxacin, Pénicilline 72%, Erythromycin 51%. Un teau de résistance moyen est enregistré pour L'oxacilline et cefoxitine 31%, Tétracyline 26%.

(Bounar et al, 2018). (Tableau 05)

Antibiotique	Résistance	Sensible
OXA	31	69
PEN	72	28
FOX	31	69
NEO	11	89
KAN	12	88
GEN	0	100
SXT	0	100
TCY	26	74
ENR	87	13
ERY	51	49
VAN	0	100

Tableau5 : Pourcentage de résistance et de sensibilité aux antibiotiques chez *S. aureus* (Bounar et al, 2018).

Conclusion

conclusion

La détection de la résistance aux antibiotiques est importante pour contrôler et traiter les maladies bactériennes. Cette étude a été menée pour étudier les gènes de sensibilité et de résistance aux antimicrobiens de *Staphylococcus aureus* isolés de vaches en lactation présentant des cas de mammite clinique ou subclinique en Algérie.

Pour étudier l'antibiorésistance on utilise plusieurs méthodes. Au départ, l'identification des souches bactériennes a été faite par API20E, API20NE puis MALDI-TOF, ensuite l'antibiogramme, alors la détermination de la concentration inhibitrice, qui a été faite par la préparation de l'ADN et enfin le PCR.

D'après les études réalisées dans différentes régions de l'Algérie entre 2009 et 2021, le gène de *mecA* et *terM* est le plus dominant (100%).

Face à cette situation préoccupante, il est obligatoire de mettre fin aux pratiques risquées en matière d'utilisation des antibiotiques en élevage par la fourniture des solutions adaptées aux problèmes qui sont cachés derrière. De l'autre côté il est indispensable de réduire de manière drastique l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire en privilégiant le perfectionnement des conduites d'élevage. Ceci comprend le respect des normes de construction des bâtiments d'élevage, le respect des règles d'hygiène et la durée de vie sanitaire, une diminution du surpeuplement et la densité en encourageant l'élevage biologique. L'ensemble de ces mesures préventives a pour but de préserver l'efficacité des antibiotiques et pour réserver leur utilisation aux situations les plus sévères.

Les Références

Les Références :

A

- 1- Actualité de la résistance bactérienne aux céphalosporines on Algérie, 2021.
- 2- AFSSA ,2006.Usage vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine.Maisons-Alfort : AFSSA, 214 pages.Disponible en ligne sur : <http://www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-ABR.pdf>.
- 3- (AFSSA/ ANMV, 2014 suivi des ventes de médicaments vétérinaire contenant des antibiotiques en 2002
- 4- Agence française de Sécurité Sanitair des Aliments (Afssa). Usage vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaines (En ligne). (Consulté le 2016 sep 27) ; Disponible à partir de l'URL : <http://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Ra-ABR.pdf>
- 5- Ameziane,N.,Bogard M., Lamorial. 2006. G principes de biologie moléculaire en biologie clinique- elsevie Masson, 705.

B

- 6- Barour,D., Berghichi, A., Boulebda.2019. Antimicrobial résistance of *Esherichia coli* isolates from catlle in Easten Algeria. 1195-1203.Dio 10.14202/Veterinary Ward. EISSN: 2231-0916.
- 7- Bounar, S., Taha Hamdi M., Aggad H., Meguenni N., Cantekin Z.2018. Carriage Methicillin- Résistant Staphylococcus aureus in poultry and cattle in Nartheren Algeria, PP 5. Dio 10, 1155.
- 8- Bradle, Y., A.G et al. 2004. The importance of the morlatiquepériode in the epidemiologie.
- 9- Bernard Aireau, B., 1991. liver maladie des bovinspage444.

C

- 10- Carte, S., 2009. La résistance aux antibiotiques. Un enjeu de santé publique importante pharmatuel, 42.

11- Cattoen, C., 2015. Persistence du portage de bactéries multi résistantes après la réanimation Réanimation ; 24(3) :249_55.

12- Chardon, H., Brugere, H., 2014. Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. Cahiers Sécurité Santé Animal du Centre d'Information des viandes.

13- Chaussade, H., Sunder, S., Bernard, L., et al., 2013. Le médicament antibiotique en wologie .Prog En Vrol ;(15)

D

14- Dierik, C., M, J.A van de goot, H.E smith, Akant and D.J mevirus., 2013. présence of ESBL/AMPC. Producing Escherichia coli in the Broiler production pyramide. a descriptive study. plos one 8 : e 79005.

15- Drancourt, M., 2016. Antibiotique de la résistance aux antibiotique J. anti.infect, 18(2) :40-4.

16- Yala, D., et al, 2001 : classification et mode d'action des antibiotiques médecines du magreb n°91.

E

17- Emilie et al, 2019 ; Emilie cardot Martin ;OanaDumitrescu, philippe les prit. La résistance aux antibiotiques.

F

18- Floss, H.,G.and Yu, 2005. RifamycineMade of action, Résistance and Biosynthesis chemical Reviens 105, 621-632.

19-Fontaine, M, 1992, vade-mecum vétérinaire xve volume 1, page 119.120.

g

20 - Gamier, F.,Buruoa, c., Lanotte,p. 2011. Biologie moléculaire : application à l'identification et au génotypage. Bctériologie médicale :theknique usuelles. 2 éme édition. F. Peuis, Mc Poly, C. Martin, T. Bingen, R Quentin : 43-63.

H

21- Hancock, R.E.W. and Brinkman, F.S.L (2002). Function of pseudomonas Porins in uptake and Efflux. Annual Review of Microbiology 56. 17-38.

22- <http://www.quandil-faut-comme.il-faut.ch/quelles-sont-les-causes-de-lantibioresistance/>

j

23- Joffin, J.N Leryral., G, 2006 Microbiologie technique. Dictionnaire des techniques. 4^{ème} édition, p 207- 209.

K

24- Kapp, C. WHO urges farmers to cut use of antibiotic growth agents. The Lancet 2003;362(9384):626.

L

25- Lagha, 2015, Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de B-lactamase à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital à Laghouat (thèse) université Aboubekr Belkaid Tlemcen. pp25-84.

26- Livre de maladie des bovins, AIRIFA, page 44.

27- La résistance aux antimicrobiens augmente dans l'Union européenne, 2016 avertissent l'EFSA et l'ECDC. /Autorité européenne de sécurité des aliments (En ligne). (Consulté le 2016 Sep 27) ; Disponible à partir de l'URL : <http://www.esfa.europa.eu/fr/news/160211>

M

28- Allard, R, M., 2002. Antibiothérapie respiratoire.

29- Kellar, Q, M., 2001 pharmacokinetic and dosage regimen of antimicrobial.

30- Ndiaye, A., 2005 et Mohammedi, D., 2007. Les entérobactéries sécrétrices de la bêta-lactamase à spectre élargi. thèse de doctorat. Université de Dakar. 13.

31- Fontaine, M., 1992, vade Mecum vétérinaire xv^e édition volume 3 page 1232.

32- Belmamou, M r., 2016.

33- Muylaent, A., Mainil., j, 2013 Résistance antibiotique les mécanismes et leur à la consommation de viande de porc. IFIP institut de porc, rapport d'étude.

N

34- Narce, H.L, 2017. Antimicrobiol stewardship in laboratory Animal facilities. Journal of the American Association for laboratory Animal science: JAALAS 56:6-10.

35- Nikaido, H, 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol. Mol. Bio. Rev. 67:593-656.

O

36- 6 OIE 2015 Liste OIE des agents antimicrobiens importants en médecine vétérinaire consulté le 06/07/2020

P

37- Phillips, I., Casewell M, Cox T et coll. (2004). Does the use of antibiotic in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 53:28-52

R

38- (Résistance aux antibiotiques, 2016 SPT6). En ligne. Consulté le 2016 sep4 ; disponible à partir de l' [http:// www.insem.fr](http://www.insem.fr) thématique immunologie-et-microbiologie dossiers d'information résistance aux antibiotique.

39- Rubin, J.E, 2013. Antimicrobial susceptibility testing methods and interpretation of results Antimicrobial therapy in veterinary Medicine. 11-20

S

40- Saidi, R., Cantekin, Z., Khelef, D., Ergun, X., Solmaz, H., Kaidi, R, 2014. 2015. Antibiotic susceptibility and Molecular Identification of Antibiotic Resistance Ones of staphylococci isolated from bovine Mastitis in Algeria, 513-520,. Dio:10.9775/KVFD.12836.

41- Sanders, p., Bousquet Melau ,A., chavinc., Toutain, PL, 2011 utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique INRA production. Animale, 24(2), 199-204.

42- Schwarz, s., et Echaslus 2001.

43- Seng, p., Rlain, J. M.,Fourwier, P.E., La, S.B.,Drancourt, M., and Raoult, D, 2010.MALOT-TOF-mass spectrometry applications in clinical microbiology.FutureMicrobiol S :1733-17.

44- Stephanie,F, 2009. Transfert d'un gene de résistance aux beta-lactamines b la CTX-M-9 entre salmonella et les entérobactéries de la ore intestinale humaine : inuence d'un traitement antibiotique. Medication. Université Rennes 1. French.

45- Sylvie PETIT, Béatrice Bouquet, Arlette Laval, Sylvie Blain et Jean Louis poncelet, 2004, Guide thérapeutique vétérinaire page 45, 108, 102, 103, 158, 172.

T

46- The Failur of the FDA : why we're Still Using Antibiotics on Livestock.F.Beinecke. The Atlantic (En ligne) 2012 (cosulté le 2016 sep 6): Disponible à partir de l' URL: <http://www.theath/archinie/2012/01/The-failure-of-the-fda-why-were-still-using-antibiotics-on-livestock/251442/>

47- Toufik Amairi, 2021.

Annexes

Annexe 01 : la Résistance bactérienne

- **figure01** : Deux types de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Annexe02 : Mécanisme du transfert de gène.

- **Figure01** : Représentation schématique des différents mécanismes de transfert horizontal de gène.

Annexe03 : Tableau de lecture de la galerie API 20E (Bio-Mérieux).

Annexe04 : Tableau de l'amorce utilisée en PCR.

Annexe05 : Tableau de concentrations médicamenteuses du disque et points critiques de la zone de diffusion pour la sensibilité aux antimicrobiens et la concentration minimale inhibitrice uniquement pour la sensibilité à la colistine (*d'E. coli*).

Annexe 02:

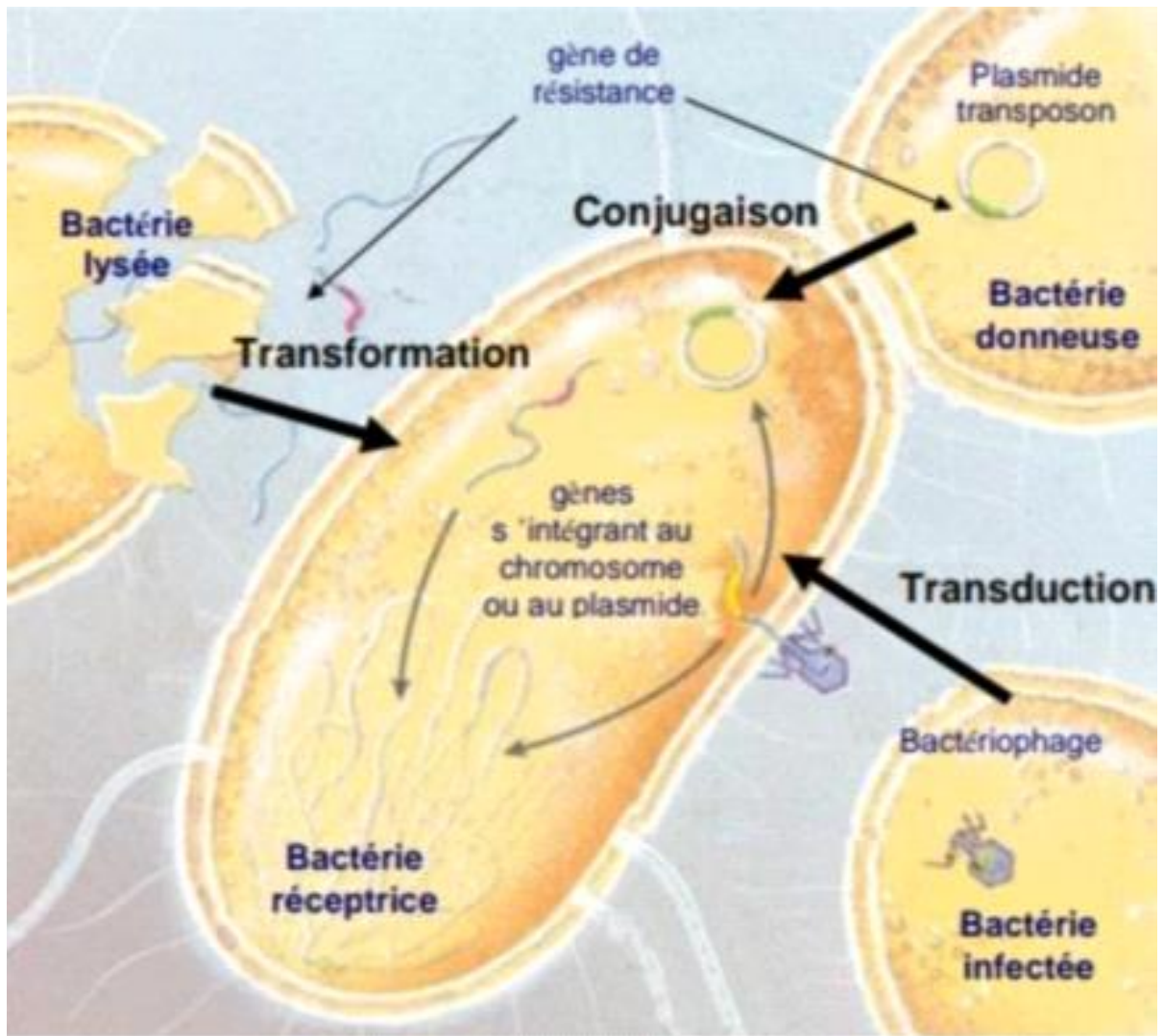


Figure01: Représentation schématique des différents mécanismes de transfert horizontal de gène.

Annexe 03 :

Tableau de lecture de la galerie API 20E (Bio-Mérieux).

Tests	Substrats	Réactions Enzymatiques	Résultats	
			Négatifs	Positifs
ONPG	Ortho-nitrophényl-galactoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine Dihydrolase	Jaune	Rouge/Orangé
LDC	Lysine	Lysine Décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine Décarboxylase	Jaune	Rouge/Orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/Grisâtre	Bleu – vert/Vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/Grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Urèase	Jaune	Rouge/Orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane Désaminase	TDA/ immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	JAMES (immédiat) ou IND (2 mn)	
			JAMES incolore Vert pale / Jaune IND Jaune	James rose IND Anneau Rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	VP1+VP2 (10 min)	
			Incolore	Rose /Rouge
GEL	Gélatinase de Khon	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune

INO	Inositol	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune
SAC	Saccharose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune
MEL	Melibiose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune
ARA	Arabinose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu vert	Jaune
OX	Cytochrome	Oxydase	OX (1-2 min)	
			Incolore	Violet
NO3-NO3	Tube de Glu	Production de (NO2) Production de (NO3)	NIT1+NIT2 (2-3 min)	
			Jaune	Rouge
			ZN	
			Rouge	Jaune

Annexe 04 :

Tableau de l'amorce utilisée en PCR.

Gene	Primer Name	Primer Sequences	Annealingg Temperatur (°C)	Amplicon Size (bp)	Reference
<i>Staphylococcus</i> spp.	Staph294-318	5'-GCCGGTGGAGTAACCTTTTAGGAGC-3'	55	106 bp	[27]
	Staph 1522-1540	5'-AGGAGGTGATCCAACCGCA-3'			
<i>S. aureus</i>	Sau 327	5'-GGA CGA CAT TAG ACG AAT CA-3'	64	1318 bp	[28]
	Sau 1645	5'-CGG GCA CCT ATT TTC TAT CT-3'			
Oxacillin/ Penicillin	mecA1	5'-CCTAGTAAAGCTCCGGAA-3'	54	314 bp	[29]
	mecA2	5'-CTAGTCCATTTCGGTCCA-3'			
Penicillin	blaZ1	5'-ACTTCAACACCTGCTGCTTC-3'	56	173 bp	[29]
	blaZ2	5'-TGACCACTTTTATCAGCAACC-3'			
Gentamicin	aacA-aphD 1	5'-TAA TCC AAG AGC AAT AAG GGC-3'	54	227 bp	[30]
	aacA-aphD 2	5'-GCC ACA CTA TCA TAA CCA CTA-3'			
<i>Erythromycin</i>	ermA 1	5'-AAG CGG TAA ACC CCT CTG A-3'	54	190 bp	[31]
	ermA 2	5'-TTC GCA AAT CCC TTC TCA AC-3'			
<i>Erythromycin</i>	ermC 1	5'-AAT CGT CAA TTC CTG CAT GT-3'	54	299 bp	[31]
	ermC 2	5'-TAA TCG TGG AAT ACG GGT TTG-3'			
Oxytetracyclin	tetK 1	5'-GTA GCG ACA ATA GGT AAT AGT-3'	54	360 bp	[31]
	tetK 2	5'-GTA GTG ACA ATA AAC CTC CTA-3'			
Oxytetracyclin	tetM 1	5'-AGT GGA GCG ATT ACA GAA-3'	54	158 bp	[31]
	tetM 2	5'-CAT ATG TCC TGG CGT GTC TA-3'			

Annexe 05

Tableau de concentrations médicamenteuses du disque et points critiques de la zone de diffusion pour la sensibilité aux antimicrobiens et la concentration minimale inhibitrice uniquement pour la sensibilité a la colistine (*d'E. coli*).

Antimicrobial agent (drug code)	Disk drug concentration (µg)	Breakpoints (mm)		
		Sensitive	Intermediate	Resistant
AMP	10 µg	≥17	14-16	≤13
AMC	20/10 µg	≥18	14-17	≤13
KF	30 µg	≥18	15-17	≤14
CTX	30 µg	≥26	23-25	≤22
Fox	30 µg	≥18	15-17	≤14
k	30 µg	≥18	14-17	≤13
CN	10 µg	≥15	13-14	≤12
SXT	1.25/23.75 µg	≥16	11-15	≤10
Te	30 µg	≥15	12-14	≤11
Na	30 µg	≥19	14-18	≤13
CIP	5 µg	≥21	16-20	≤15
F	300 µg	≥17	15-16	≤14
C	30 µg	≥18	13-17	≤12
CT		MIC (µg/ml)		
	WT		NWT	
	≤2		≥4	

WT=Wild type, NWT=Non-wild type, MIC=Minimum inhibitory concentration , AMP=Ampicillin, AMC=Amoxicillin/clavulanate, KF=Cephalothin, CTX=Cefotaxime, Fox=Cefoxitin, k=Kanamycin, CN=Gentamycin, SXT=Trimethoprim/sulfamethoxazole, Te=Tetracyclines, Na=Nalidixic acid, CIP=Ciprofloxacin, F=Nitrofurantoin, C=Chloramphenicol, CT=Colistin