



**PROJET DE FIN D'ETUDE**

LICENCE SCIENCES & TECHNIQUES

<<BIOTECHNOLOGIES, HYGIENE & SECURITE DES ALIMENTS>>

Sous le thème

***Profil de bio-résistance d'E coli chez les volailles :***  
***Antibiogramme***

**Présenté par :**

ANOUNE Chaimae

**Encadré par :**

- Mme OUHMIDOU Bouchra
- Mme MECHATTE Asmae

**Soutenu le :** 11 juin 2013.

**Devant le jury composé de :**

- Mme OUHMIDOU Bouchra
- Mme MECHATTE Asmae
- Mme SEFRIQUI Samira

**Stage effectué au sein de la société AL ELF de FES**



**Année Universitaire : 2012/2013**

# Sommaire

<i>Introduction.....</i>	<i>1</i>
--------------------------	----------

## *Partie 1 : Présentation de la société*

<i>1-Identité.....</i>	<i>2</i>
<i>2-Historique.....</i>	<i>2</i>
<i>3-Activité de la société.....</i>	<i>2</i>
<i>4-Contrôle de qualité au laboratoire.....</i>	<i>2</i>
<i>5-Organigramme (voir annex)</i>	

## *Partie 2 : Etude bibliographique*

### *A/ Importance d'élevage*

<i>A-1. Principes généraux en élevage industriel.....</i>	<i>4</i>
<i>A-2. Aviculture industrielle au Maroc.....</i>	<i>4</i>

### *B/Entérobactéries*

<i>1-Définition.....</i>	<i>5</i>
<i>2- Caractères généraux.....</i>	<i>5</i>

### *B-1-Escherichia Coli*

<i>B-1-1- Historique.....</i>	<i>5</i>
<i>B-1-2-Habitat –réservoir.....</i>	<i>5</i>
<i>B-1-3-Diagnostic biologique.....</i>	<i>6</i>
<i>B-1-4Etude bactériologique.....</i>	<i>6</i>

### *C/ La colibacillose*

<i>Définition.....</i>	<i>7</i>
<i>Mode de transmission.....</i>	<i>7</i>
<i>Symptômes.....</i>	<i>7</i>
<i>Prévention.....</i>	<i>8</i>

### *D/Antibiogramme*

<i>1-Définition.....</i>	<i>8</i>
<i>2-Quelques termes.....</i>	<i>8</i>
<i>3-Technique classiques.....</i>	<i>9</i>
<i>    Méthode de dilution.....</i>	<i>9</i>
<i>    Technique en milieu liquide.....</i>	<i>11</i>
<i>    Technique en milieu solide.....</i>	<i>11</i>

### *E/Antibiotiques*

<i>1- Définition.....</i>	<i>11</i>
---------------------------	-----------

<b>2- Mode d'action des antibiotiques.....</b>	<b>12</b>
<b>a- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.....</b>	<b>12</b>
<b>b-Action sur la membrane des cellules.....</b>	<b>12</b>
<b>c- Inhibition de la synthèse des acides nucléiques.....</b>	<b>12</b>
<b>d-Inhibition de la synthèse protéique.....</b>	<b>13</b>
<b>3- Mécanismes de résistance.....</b>	<b>13</b>
<b>Modification de la cible des ATB.....</b>	<b>13</b>
<b>Modification des ATB.....</b>	<b>13</b>
<b>Réduction de la perméabilité.....</b>	<b>13</b>
<b>L'efflux des ATB.....</b>	<b>14</b>

### **Partie 3 : Etude pratique**

#### **I. Techniques bactériologiques**

<b>I.1 Disposition.....</b>	<b>15</b>
<b>I.2 Prélèvements.....</b>	<b>15</b>
<b>I.3 Matériels et Méthodes.....</b>	<b>15</b>
<b>I.4 Lecture des résultats.....</b>	<b>16</b>

#### **II. Résultats et interprétation**

<b>II.1 Résultats.....</b>	<b>17</b>
<b>II.2 Interprétation des résultats.....</b>	<b>19</b>

<b>Conclusion .....</b>	<b>20</b>
-------------------------	-----------

**Bibliographie**

**Annexe**

# Introduction

La découverte des antibiotiques a constitué un progrès médical extraordinaire, qui a permis d'améliorer le pronostic des infections.

Cependant, une résistance à ces produits s'est rapidement développée et a évolué jusqu'à constituer un problème de santé de volailles important à l'échelle mondiale. Les conséquences en sont très nombreuses, dont une augmentation de la morbidité et de la mortalité, un accroissement des coûts des soins de santé.

Certaines infections résistent même à tous les antibiotiques actuellement disponibles sur le marché.

Pour pouvoir guérir l'infection des volailles, le diagnostic est le premier pas. Ensuite, on fait appel à l'analyse bactériologique l'Antibiogramme pour préciser l'antibiotique efficace pour le traitement.

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également :

- À la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne ;
- À l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

Sa réalisation est laissée à l'initiative du biologiste. Il doit être pratiqué en raison de la qualité, de la densité de l'espèce ou des espèces isolées, soit de l'état clinique du patient ou du siège de l'infection sur les espèces susceptibles d'engendrer un processus infectieux.

Il faut garder à l'esprit qu'en pratique, on étudie l'effet des antibiotiques *in vitro* le plus souvent et dans des conditions normalisées de culture.

Dans ce cadre j'ai effectué mon stage au sein du laboratoire de la société AL ELF dont l'objectif est la mise en évidence du profil de bio-résistance d'*E coli* chez la volaille.

Le présent travail est constitué de trois grandes parties :

- ❖ La première partie : présentation de la société ainsi que les analyses réalisées au sein du laboratoire.
- ❖ La deuxième partie : consacrée aux termes, définitions et généralités de bases théoriques et pratiques essentiels pour pouvoir appliquer le sujet dans la troisièmepartie.

## 1-Fiche techniques de la société :

---

Raison sociale	Société EL ALF
Forme juridique	Société Anonyme (S.A).
Date de création	1974
Capital	50.000.000 DH
Patente	13245830
Identification fiscale	04500755
Tél	00 .212 5.35.72.80.95

---

---

Fax	055 65 56 08
E-mail	<a href="mailto:elalf-fes@menara.ma">elalf-fes@menara.ma</a>
Siège social	Lotissement Ennamae Quartier, Industriel Ben souda Fès MAROC
Superficie	6000 m2, dont 2500 m2 couverts
Activités	Fabrication d'Aliments composés pour Bovins, Ovins et Volailles
Capacité de production	850 tonnes.
Destination des produits	fermes propres à l'entreprise, Revendeurs et Eleveurs
Effectif	144 permanentes 52 temporaires
Certification	ISO 9001 version 2008 et OHSAS 18001

---

## **2- Historique de la société**

La société ALF AL Maghreb de Fès est une société anonyme créée en 1974 par le groupe CHAOUNI à SIDI BRAHIM à Fès avant de se déplacer au nouveau site situé au lotissement ENNAMAE au quartier industriel BENSOUDA en 1998.

## **3-Activité de la société**

La société EL ALF a pour activités :

- La fabrication d'un pré-mélange d'acides aminés, d'oligo-éléments et vitamines, ce qu'on appelle Premix incorporé à un pourcentage compris entre 0.5 et 1% lors de fabrication d'aliments composés.
- La fabrication d'aliments composés équilibrés au plan nutritionnel est étudiés pour chaque type d'animal tel que : farine, miettes et granulés.

Les aliments destinés aux volailles occupent la première place parmi les divers aliments constituant l'ensemble de la production, suivent dans l'ordre les aliments pour bovins, puis aliments pour ovins.

La majorité de la production est destinée aux éleveurs puis à des clients spécifiques.

## **4-Contrôle qualité au laboratoire de la société :**

La qualité des matières premières et des produits finis est contrôlée en permanence au sein du laboratoire de la société .Ce dernier est doté de 2 laboratoires à savoir :

### **4-1-Laboratoire physico-chimique**

Au niveau du quel s'effectuent des analyses portant à la fois sur les caractéristiques physiques et chimiques des produits et des matières premières tels que :

L'humidité, la matière grasse, la matière minérale, l'activité de l'eau et des protéines brutes.

### **4-2-Laboratoire microbiologique**

Laboratoire destiné aux analyses bactériologiques et sérologiques :

#### **A- Les analyses bactériologiques :**

1-Dénombrement de moisissures : La méthode repose sur l'ensemencement des échantillons sur la gélose Sabouraud des différentes dilutions préparées dans l'eau péptonée.

2-Recherche des salmonelles : se réalise en 3 étapes :

- Un enrichissement du milieu permettant la croissance sélective de salmonella,
- Un isolement sur milieu spécifique,
- Une identification par une galerie de tests biochimiques.

### B- Les analyses sérologiques :

Recherche des mycotoxines: ce sont des métabolites secondaires hautement toxiques produits principalement par les champignons des espèces *Fusarium*, *Aspergillus*, et *Penicillium*. Ce sont de petites molécules de durée de vie dans l'aliment bien plus longue que celles des champignons les ayant synthétisés. Elles sont chimiquement et thermiquement stables. Le laboratoire de la société s'intéresse à la recherche de trois types de mycotoxine : L'aflatoxine Total ou AFT, Le déoxynivalénol ou DON et Fumonisine FUM à l'aide du test ELISA.

### Principe du test

Le test ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection, qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps. On trouve différents types :

Elisa en sandwich

Elisa en compétition

Elisa indirecte

## 5-Organigramme de la société : (Voir Annexe)

### A-1 'Importance de l'élevage

#### **A-1.Les principes généraux à appliquer en élevage industriel :**

1. Le premier objectif est d'aboutir à un produit fini qui soit homogène durant toute la période d'élevage (1jour jusqu'au 45jour)

Le consommateur exige une viande blanche de qualité et de salubrité répondant aux normes sanitaires en vigueur.

L'éleveur doit respecter les normes de loi sanitaire à fin de produire une viande répondant à un cahier de charge bien défini.

2. Le deuxième principe général est de respecter autant que possible certaines règles de base sur le plan sanitaire :

Dans l'élevage organisé, la maîtrise de la mortalité est obtenue avant tout par la technique d'élevage en bande : dans un bâtiment sont mis en place les poussins d'1 jour provenant du même couvoir, les poussins constituant ainsi une bande homogène qui va être élevée jusqu'à l'enlèvement pour l'abattage ; après l'enlèvement, le bâtiment est complètement vidé, nettoyé, désinfecté, ce qui permet d'abaisser le niveau du microbisme dans le bâtiment, un vide sanitaire est respecté ; puis on remet en place une nouvelle litière, le matériel d'alimentation, d'abreuvement et de chauffage et on prépare le bâtiment pour recevoir une nouvelle bande.

Ce principe implique donc une séparation complète entre bandes d'animaux d'âges différents et évite ainsi la contamination des volailles les plus jeunes par les volailles les plus âgées. La séparation entre espèces différentes, en particulier palmipèdes par rapport à poulet/dinde est aussi importante pour la maîtrise des virus Influenza Aviaire comme d'autres contaminants(Réf 1)

En aviculture, ce principe est plus difficile à respecter que dans les élevages organisés : la vente directe impose une commercialisation toute l'année et donc un chevauchement de bandes d'âges différents. Toute l'organisation de l'élevage doit être réfléchi pour éviter les contaminations entre les volailles de bandes différentes. Même si ce principe n'est pas toujours facile à mettre en place, il est en tout cas impératif de séparer complètement les ateliers de production de volailles de chair et les ateliers de poudeuses d'œufs de consommation, les poules étant conservées pendant presque un an.

## **A-2. Aviculture industrielle au Maroc :**

Au Maroc comme dans d'autres pays (Europe, Amérique) l'élevage de volaille est soumis à des lois sanitaires strictes, notamment la loi 4999 exigée par l'ONSSA relative à la protection d'élevage et du circuit de la commercialisation des volailles.

En effet tous les éleveurs doivent être sous un encadrement d'un vétérinaire sanitaire qui doit assurer le contrôle des maladies contagieuses et le suivi des maladies affectant l'élevage.

## **B-Entérobactéries**

### **1-Définition :**

Une entérobactérie est le nom courant d'une [bactérie](#) de la [famille](#) des *Enterobacteriaceae*, qui colonise le tractus intestinal des humains et d'autres animaux.

Ce sont des [bactéries](#) , [localisées](#) dans le [tube digestif](#) des animaux mais aussi sur des plantes, indicatrice de [contamination](#) fécale des sols et des eaux.

Elles regroupent ainsi de nombreux genres, très [ubiquitaires](#), et ceux-ci sont fréquemment rencontrés en [pathologie](#) infectieuse ainsi que dans les bio-industries ([fermentation](#) de fromages et produits [laitiers](#), [alcools](#), traitements médicaux supplétifs , analyse [biologique](#) de prélèvements médicaux ou vétérinaires pour isoler en culture les agents [pathogènes](#))(Réf 2)

### **2-Caractéristiques des entérobactéries:**

- Bacilles à Gram négatif.
- Mobiles avec ciliature péritriche.
- Poussant sur milieux de culture ordinaires.
- Aérobie - anaérobie facultatif.
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- Réduisant les nitrates en nitrites.
- Oxydase négatif (Réf3).

## **B-1-ECHERICHIA COLI**

### B-1-1-Historique

- ◆ 1879: Theodor Escherich (1857-1911) découvre un bacille qu'il dénomma *Bacterium coli* commune dans des selles de nourrissons.
- ◆ 1904 : Isolement de cette même bactérie dans un cas d'infection urinaire.
- ◆ 1919 : Castellani et Chalmers donne le nom d'*Escherichia coli* à cette bactérie. (Réf4)

### B-1-2-Habitat – Réservoir

- \_ Bactérie commensale du tube digestif.
- \_ *E. coli* est l'espèce la plus importante des anaérobies facultatifs de l'intestin.
- \_ La présence d'*E. Coli* dans l'eau = témoin d'une contamination fécale qui la rend impropre à la consommation (recherche des coliformes).
- \_ Pathogène indiscutable pour l'homme et l'animal.(Réf 4)

### B-1-3-Diagnostic biologique

Prélèvements bactériologiques à réaliser dans les conditions d'asepsie et avant tout traitement ATB:

- Selles (coprocultures)
- Urines
- Sang : hémocultures
- LCR
- Pus, Plaies, Liquides internes (Réf6).

### B-1-4-Etude bactériologique

- Examen direct au Microscope optique.
- Bacille à Gram négatif.
- 2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large.
- Germe pyogène = Polynucléaires neutrophiles (Réf6).

### Caractères biochimiques

- ✚ Aérobie anaérobie facultative ;
- ✚ Mobile ;



- ✚ Glucose fermenté + ;
- ✚ Lactose + (différence avec de nombreuses autres entérobactéries) dans la majorité des cas ;
- ✚ Indole (+), citrate (-), mannitol (+) (Réf7).



Figure A : Caractères biochimiques d'*E coli*

### □ Culture bactérienne

- ✚ Pousse sur milieux non sélectifs ou sélectifs
- ✚ 24h à 37°
- ✚ Colonies rondes, translucides, parfois hémolytiques.
- ✚ Géloses semi-sélectives: Drygalski (colonies jaunes), Mc Conkey (colonies rose-rouge) .
- ✚ Peut survivre 3 mois à température ordinaire.
- ✚ Tué à 56°C pendant 1h (Réf 7).

Milieu Drygalski milieu Mc Conkey

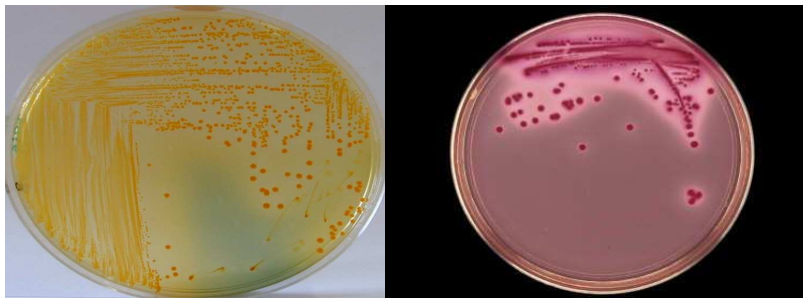


Figure B : Manifestation d'*E coli* dans les milieux Mc Conkey et Drygalski

## C- la colibacillose

### Qu'est ce que la ou les colibacilloses ?

Bactéries présentes normalement dans le tube digestif, Les colibacilles sont des hôtes normaux des intestins. Il n'est donc pas possible de les éliminer d'une colonie. Heureusement, le plus souvent, ces bactéries restent localisées dans les intestins sans envahir les organes. Il n'y a donc pas de maladie. (Réf8)

### Comment s'attrape telle ?

La colibacillose a comme voie principale d'entrée **le tractus respiratoire** via l'inhalation de particules de poussières contaminées par des *E. Coli* excrétées du tractus digestif d'animaux sains.

Les *Escherichia coli* sont très facilement véhiculés par **la poussière** qui constitue la source la plus

importante de contamination.

On retrouve également ces bactéries dans **l'alimentation** et **l'eau de boisson**.(Réf8)

### **Symptômes :**

Le diagnostic de colibacillose peut être posé dans le cas de diarrhées très liquides, les possibilités de trichomonose ou de coccidiose étant écartées.

Les signes observés dépendent du virus associé et des conditions d'hygiène. Ce sont des **diarrhées**, des **mauvaises croissances au nid**, des **mortalités en coquille**. (Réf8)

### **Les signes à reconnaître :**

- Hyperthermie (42°C à 44°C)

- Les plus atteints présentent des signes de détresse respiratoire (bec ouvert), le cou en forme de S souvent, la tête est rejetée vers l'arrière.(Réf8)

### **Comment la combattre ?**

Lors de l'évolution de cette maladie virale, les traitements antibiotiques utilisés n'ont pas d'action directe contre les virus, mais ils permettent de lutter contre les complications bactériennes (essentiellement colibacillaires).

**L'administration fréquente et massive d'antibiotiques peut favoriser la prolifération des colibacilles** en anéantissant la flore intestinale normale et en créant un vide que le colibacille tentera à combler.

Le traitement antibiotique permet de juguler rapidement l'infection à condition que tous les paramètres d'élevage soient bien maîtrisés (alimentation, hygiène).(Réf8)

### **Préventions :**

▶ Contrôler l'humidité, la ventilation, la teneur en poussière et en ammoniac dans l'air.

▶ Les rongeurs, les insectes parasites, coprophages, nécrophages sont aussi des réservoirs potentiels de colibacilles et doivent être systématiquement détruits.

▶ Hygiène. (Réf8)

## **D-Antibiogramme**

### **1-Définition**

Test qui permet de déterminer la sensibilité d'une bactérie à divers antibiotiques.(Réf9)

### **Principe**

**L'antibiogramme est un examen réalisé en laboratoire de bactériologie. Il est nécessaire avant d'introduire un traitement par antibiothérapie dans le cas de certaines maladies infectieuses, afin de déterminer les antibiotiques les plus efficaces contre le germe en cause.**

### **2-Quelques termes**

Deux notions sont à connaître avant de faire un antibiogramme :

- La **CMI** ou **Concentration Minimale Inhibitrice**. Il s'agit de la concentration de l'antibiotique la plus faible pour laquelle la croissance bactérienne est inhibée (pas de croissance de la population ; 100% de survivants)
- La **CMB** ou **Concentration Minimale Bactéricide**. C'est la concentration de l'antibiotique la plus faible permettant de détruire 99.99% des bactéries présentes au départ (soit une bactérie survivante sur 10000). Si  $CMB < 5 \text{ CMI}$  l'antibiotique est très efficace.

Au contraire si  $CMB > 10 \text{ CMI}$ , on le considère peu efficace.

La mesure de la CMI permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'antibiotique testé. Pour chaque antibiotique, on a pu mesurer les concentrations sériques obtenues chez le patient dans le cadre d'une posologie normale. on distingue alors :

- la souche est dite **RESISTANTE (R)** : la CMI ne peut être atteinte par un traitement réalisé à l'aide de cet antibiotique sans être toxique pour l'animal; les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute C, correspondant à un diamètre inférieur au diamètre critique d.
- la souche est dite **SENSIBLE (S)** : la CMI peut être atteinte par un traitement usuel réalisé à l'aide de cet antibiotique. Les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un diamètre supérieur ou égal au diamètre critique D.
- La souche est dite **INTERMEDIARE (I)** : la CMI ne peut être atteinte qu'en augmentant les doses. Les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et du diamètre correspondant sont compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques.(Réf 10)

Sachant que :

c = concentration critique inférieure (CCI) : la plus faible concentration en antibiotique obtenue avec une posologie usuelle.

C = concentration critique supérieure (CCS) : la plus forte concentration en antibiotique obtenue avec une posologie usuelle. Aussi c'est le seuil de toxicité d'antibiotique.

Tableau 1 : Limites des Diamètres et Concentration Minimales Inhibitrices d'antibiotique

Catégories	CMI (mg/L)	Diamètre (mm)
Sensible	$CMI \leq c$	Diamètre $\geq D$
Résistant	$CMI > C$	Diamètre $< d$
Intermédiaire	$c < CMI \leq C$	$d \leq \text{Diamètre} < D$



Figure C : Représentation des diamètres et des concentrations Minimales Inhibitrices

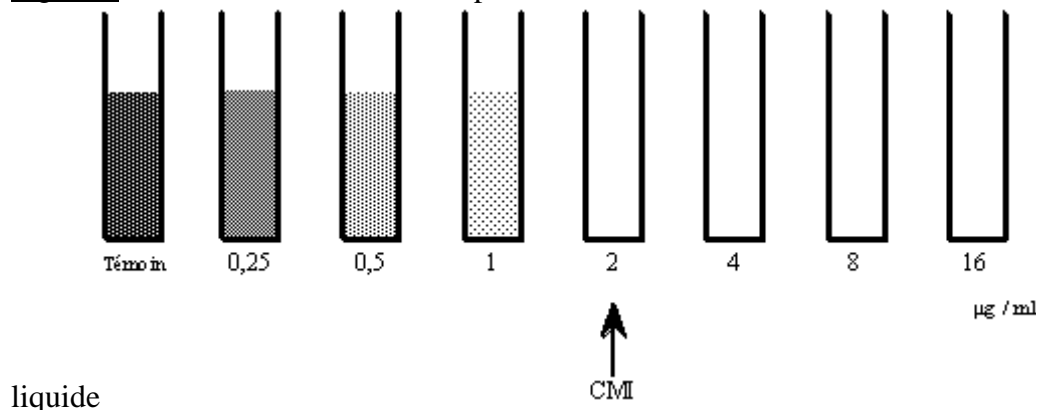
### 3-Techniques classiques

#### Méthodes de dilution

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2.

En milieu liquide (figure 1), l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macro dilution) ou de cupules (méthode de micro dilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible. (Réf 10)

Figure 1 : Détermination de la CMI par dilution en milieu



#### A-1 Macro méthode : elle consiste à :

Reporter dans une série de tubes stériles 1 ml de chaque dilution de l'antibiotique. Ajouter dans tous les tubes le même volume d'inoculum. Incuber 24 heures à la température optimale de la souche à tester. Observer les tubes après incubation : la CMI sera la concentration en antibiotique la plus faible pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. En fait, elle est comprise entre le tube correspondant à cette définition et le premier tube dans lequel une croissance est observée. (Réf 10)



Figure D : Représentation de différentes dilutions d'antibiotique dans une série de tubes

#### A-2 Micro méthode

Des microplaques à fond en U (plaque à micro titration) sont utilisables pour la détermination des CMI. Une plaque 96 puits permet la détermination de la CMI de 8 antibiotiques vis-à-vis de la même souche. Dans les cupules d'une même ligne, les dilutions de l'antibiotique et la souche sont introduites à l'aide d'une pipette automatique. Incuber 24 h à la température optimale de la souche. Observer la plaque est une éventuelle pousse dans chaque cupule (ou un dépôt au fond de la cupule). La CMI correspond à la concentration de la cupule ne présentant pas de croissance. (Réf 10)

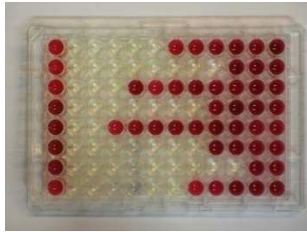


Figure E : Utilisation des microplaques pour la détermination des CMI

En milieu liquide couramment utilisé :

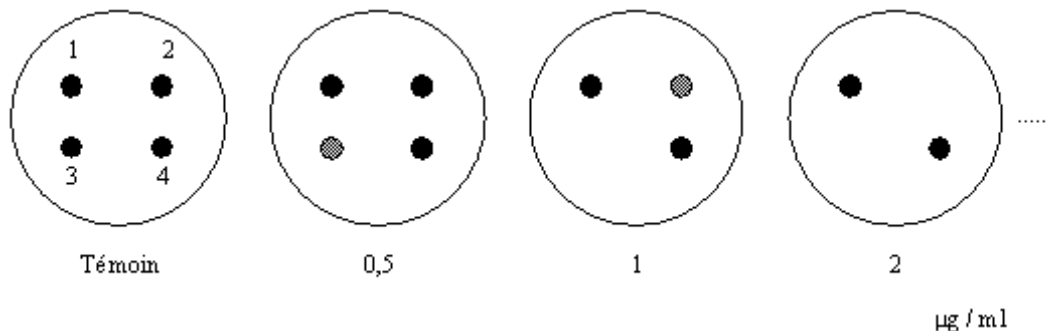
La détermination de la sensibilité peut se réaliser en milieu liquide en testant la sensibilité de la souche bactérienne vis-à-vis des concentrations critiques supérieures et inférieures des différents antibiotiques ou uniquement vis-à-vis des concentrations critiques inférieures.

Ces méthodes simplifiées sont commercialisées, ce qui les rend accessibles aux laboratoires de diagnostic. L'inoculation des galeries et la lecture des résultats peuvent se réaliser manuellement ou à l'aide d'automates : technique en 24h (à 2 dilutions, c et C)

En milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de petri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique.

La méthode de dilution en milieu gélosé, réalisée avec une gamme de concentrations en progression géométrique de raison 2 est la méthode de référence. (Réf 10)

Figure F : Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.



Les techniques de dilution en milieu gélosé permettent également de mesurer la concentration inhibitrice 99% (concentration qui inhibe la croissance de 99% des cellules d'une souche bactérienne) ou la concentration inhibitrice 50% (concentration qui inhibe la croissance de 50% des cellules d'une souche bactérienne). Les déterminations des concentrations inhibitrices 99% et 50% sont plus précises que la détermination des CMI. (Réf 10)

## E-ANTIBIOTIQUES

### 1-Définition

**"Un antibiotique est une substance produite par des organismes animaux ou végétaux (le plus souvent des micro-organismes végétaux, bactéries, champignons), ou reproduite par synthèse et qui, à faible dose, a la propriété d'inhiber la croissance des bactéries et d'autres micro-organismes et même de les détruire."**(Réf 11)

## 2-Mode d'action des antibiotiques

Le principe d'action des antibiotiques consiste à bloquer sélectivement une étape d'un mécanisme essentiel à la survie ou à la multiplication des [micro-organismes](#). Le mécanisme ciblé par l'antibiotique est le plus souvent spécifique des bactéries et n'a pas d'équivalent chez les [eucaryotes](#) et en particulier chez l'Homme. Ainsi, idéalement, l'antibiotique tue ou bloque la multiplication des bactéries mais n'a pas d'impact sur les cellules du patient traité. Il existe ainsi quelques grandes familles de mécanisme d'action pour les antibiotiques, ce qui permet de les regrouper en grandes classes décrites ci-après.(Réf 12)

### a-Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne

Il existe un ensemble d'antibiotiques qui bloquent différentes étapes de cette machinerie. Le blocage de la synthèse de la paroi fragilise fortement l'enveloppe externe des bactéries, qui deviennent très sensibles à des stress extérieurs ([pression osmotique](#), température, stress mécanique) provoquant la [lyse](#) cellulaire. *In vitro*, on peut maintenir ces cellules sans paroi avec un stabilisant osmotique, on obtient alors un [protoplaste](#).

Ces antibiotiques agissent sur des cibles extracellulaires. Ils n'ont donc pas besoin de pénétrer dans la cellule, ce qui les rend insensible aux mécanismes de résistance liés à la perméabilité ou à l'efflux. En revanche, ils ne sont en général actifs que sur les germes en croissance. Les bactéries quiescentes (qui ne se divisent pas) ne sont pas perturbées par l'action de ces molécules, parce que le peptidoglycane n'est produit que lors de la croissance cellulaire, pour s'adapter à l'augmentation du volume précédant la division cellulaire.

Les principaux antibiotiques ayant ce mode d'action correspondant à la famille appelée les [bêta-lactames](#) ([pénicillines](#) et [céphalosporines](#)).(Réf 12)

### b-Action sur la membrane des cellules

Il existe un certain nombre de molécules antibiotiques qui agissent sur la membrane des cellules, soit en agissant comme des détergents qui désorganisent les lipides, soit en formant un pore (un trou) dans la membrane qui va permettre la fuite des composés cellulaires.

Parmi ces composés attaquant la membrane des cellules bactériennes, on trouve :

► La [polymyxine](#) qui est un [surfactant](#) (détergent) interagissant avec les lipides membranaires et qui désorganise la [bicouche phospholipidique membranaire](#). Ceci détruit l'intégrité de la membrane, les éléments hydrosolubles sortent de la cellule. Cette molécule est efficace sur les cellules en croissance et au repos ;

► La [gramicidine](#), un [peptide](#) qui s'insère dans la membrane en formant un pore cylindrique permettant la fuite des cations.(Réf 12)

### c-Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

Un certain nombre de composés peuvent bloquer de manière directe ou indirecte ces voies de biosynthèse des acides nucléiques et ont en conséquence une activité antibiotique.



Il existe des antibiotiques qui bloquent l'action de l'ADN, il s'agit des [amino-coumarines](#) et des [quinolones](#). Plus récemment, ces dernières ont été supplantées par les [fluoroquinolones](#), molécules de synthèse permettant de contourner les mécanismes de résistance aux quinolones.(Réf 12)

#### d-Inhibition de la synthèse protéique

Il existe un grand nombre de molécules antibiotiques qui sont capables de bloquer sélectivement la traduction des protéines chez les bactéries, mais pas chez l'homme ou l'animal.

De fait, approximativement la moitié des antibiotiques utilisés en thérapeutique (disposant de l'[AMM](#)) ont pour cible le [ribosome](#) bactérien. Ces antibiotiques se répartissent en plusieurs classes, de nature chimique et de mode d'action différents. La plupart interagissent avec l'[ARN ribosomique](#). Enfin, certains antibiotiques bloquent la traduction en inhibant l'action des facteurs de traduction associés au ribosome.

- Les aminoglycosides ou [aminosides](#) (exemples : [streptomycine](#), [gentamicine](#), [amikacine](#)) se fixent sur la petite sous-unité des [ribosomes](#) (30 [Svedberg](#)) au niveau du site du décodage des [codons](#), empêchent la [traduction](#) de l'[ARNm](#) et conduisent à des erreurs de lecture.
- Les [cyclines](#) (exemples : [tétracycline](#), doxycycline, auréomycine) : en se fixant sur la sous-unité (30 S), elles bloquent l'élongation de la chaîne polypeptidique.(Réf 12)

#### 3-Mécanismes de résistance

Il existe une grande variété de mécanismes d'action que l'on peut regrouper dans les grandes catégories suivantes :

##### **La modification de la cible de l'antibiotique.**

Une enzyme spécifique effectue une modification chimique covalente de la cible, par exemple une méthylation, ce qui inhibe la fixation de l'antibiotique, comme dans le cas précédent, mais sans qu'il y ait altération du génome. Ce type de mécanisme est rencontré dans la résistance aux [macrolides](#), où il existe une méthylase qui confère la résistance en modifiant l'[ARN ribosomique](#) au niveau du site de liaison de l'antibiotique.(Réf 12)

##### **La modification de l'antibiotique.**

De nombreuses souches résistantes fabriquent une enzyme qui modifie ou qui clive la molécule d'antibiotique, la rendant inactive. C'est le mécanisme principal de résistance aux [β-lactamines](#) (famille de la [pénicilline](#) et des [céphalosporines](#)) qui implique les enzymes de la famille des [β-lactamases](#).(Réf 12)

##### **La réduction de la perméabilité [membranaire](#).**

La bactérie "ferme" les pores par lesquels l'antibiotique pénètre dans la cellule. Ces pores sont normalement constitués par des protéines qui forment de canaux et que l'on appelle des [porines](#). Les bactéries résistantes réduisent leur nombre de porines.  
(Réf 12)

##### **L'efflux des antibiotiques.**

Les bactéries sont capables d'éliminer les antibiotiques par pompage actif hors de la cellule, qui « recrache » littéralement les composés toxiques au dehors. C'est l'un des principaux

mécanismes de résistance de [\*Pseudomonas aeruginosa\*](#), pathogène opportuniste responsable de nombreuses [infections nosocomiales](#).(Réf 12)

## **I. Techniques bactériologiques**

### **I.1 Disposition**

- ▶ salle d'autopsie
- ▶ salle de bactériologie



## I.2 Prélèvement

Au niveau de la salle d'autopsie les prélèvements sont effectués à partir des différents organes de la volaille (dinde, poules, poulet de chair) à savoir :

- Foie
- Rate
- Cœur
- Grappe Ovarienne

## I.3 Matériels et Méthodes

Pistolet des ATB, Milieux de cultures nécessaires.

### À. Méthode :

Le protocole utilisé est selon la Méthode des disques des ATB :

#### **A-1.Principe :**

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose de Mueller-Hinton. Des disques d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. 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.

#### **A-2.Technique :**

- ❖ Ensemencement de la culture bactérienne à la surface de la gélose EMB.
- ❖ Incubation 18 à 24h à 37°.
- ❖ Préparation et ensemencement d'inoculum.
- ❖ Dépôt des antibiotiques.
- ❖ Incubation 18 à 24h à 37°.
- ❖ Lecture des résultats.

## B. Lecture des résultats

### B.1Lecture :

Mesure du diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle graduée.

### B.2 Interprétation :

On dispose d'une liste contenant les limites acceptables des diamètres de la zone d'inhibition selon chaque espèce. On détermine alors 3 catégories :

- Sensible : où le diamètre est supérieur au diamètre critique
- Intermédiaire : où le diamètre est compris entre les 2 diamètres critiques.
- Résistante : où le diamètre est inférieur au diamètre critique.

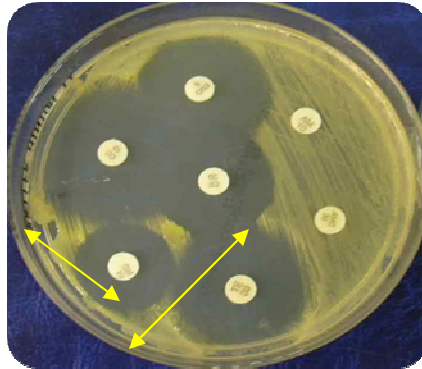


Figure2 : Représentation des zones d'inhibitions avec la mise en évidence des diamètres

## II. Résultats et interprétation

### II.1 Résultats :

Tableau 2 : Résultats de résistance et de sensibilité d'*E Coli* vis-à-vis des antibiotiques utilisés pour différents sites

Date	ATB	Cs	A	E	ENF	SXT	DO	AMP	TET	UB
	Sites									
18/04/ 2013	A	S	R	R	R	S	-	-	-	-
	B	S	R	R	R	S	-	-	-	-
	C	S	R	R	S	R	-	-	-	-

	D	S	R	R	S	R	-	-	-	-
	E	S	R	R	R	S	-	-	-	-
25/04/ 2013	A	S	R	R	S	S	-	-	-	-
	B	S	R	R	S	R	-	-	-	-
	C	S	R	R	S	R	-	-	-	-
	D	S	R	R	S	R	-	-	-	-
	E	S	R	R	S	S	-	-	-	-
02/05/ 2013	A	S	R	R	S	R	-	-	-	-
	B	S	R	R	R	S	-	-	-	-
	C	S	R	R	R	R	-	-	-	-
	D	S	R	R	S	R	-	-	-	-
	E	S	R	R	I	R	-	-	-	-
09/05/ 2013	1	S	R	R	I	R	R	R	R	R
	2	S	R	R	R	R	R	R	R	R
	3	S	R	R	S	R	R	R	R	S
	4	S	R	R	R	R	R	R	R	R
15/05/ 2013	5	S	R	R	R	R	R	R	R	R
	6	S	S	R	S	R	S	S	R	S
	7	S	R	R	S	R	R	R	R	S
	8	S	R	R	I	S	I	R	R	S

CS : Colistine ; DO : Doxycycline ; TET : Tétracycline ; AMP : Ampicilline ;

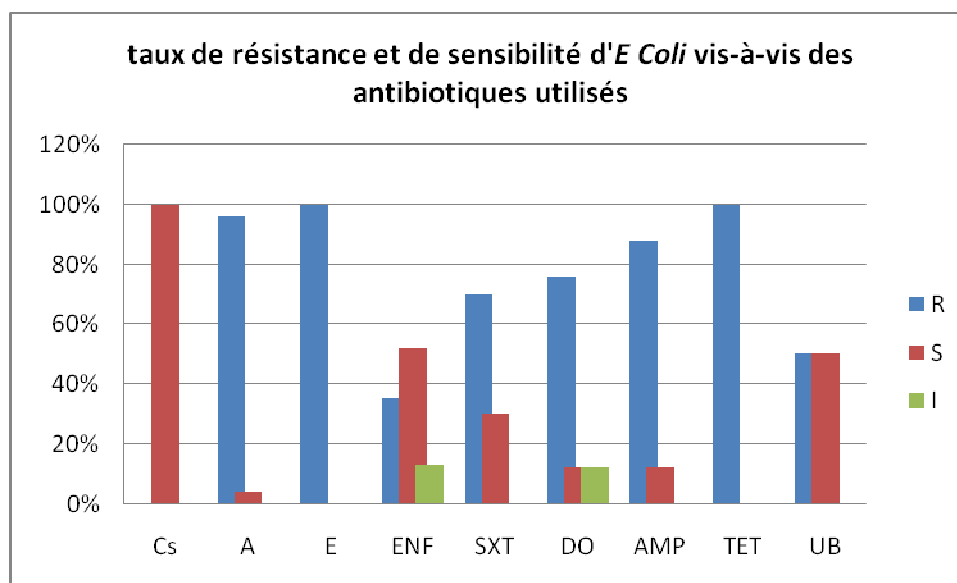
UB : Flumequine; A : Amoxicilline; E: Erythromycine; ENF : Enrofloxacin ;

SXT : sulfaméthoxazole ;

Tableau 3 : Pourcentage de résistance et de sensibilité d'*E Coli* vis-à-vis des antibiotiques utilisés

	R	S	I
Cs	0%	100%	0%
A	96%	4%	0%
E	100%	0%	0%
ENF	35%	52%	13%
SXT	70%	30%	0%
DO	76%	12%	12%
AMP	88%	12%	0%

TET	100%	0%	0%
UB	50%	50%	0%



**Figure 3 :Taux de résistance et de sensibilité d'*E Coli* vis-à-vis des antibiotiques utilisés**

## II.2 Interprétation des résultats :

Selon le tableau 3 on observe que :

*E coli* est sensible vis-à-vis de la colistine, l'enrofloxacin, sulfaméthoxazole et la flumequine leur pourcentage est successivement : 100% ; 52% ; 30% ; 50% ; résistante vis-à-vis d'érythromycine, tétracycline, ampicilline, Amoxicilline Sulfaméthoxazole, doxycycline leur pourcentage est successivement : 100% ; 100% ; 88% ; 96% ; 70% ; 76%. Et intermédiaire vis-à-vis de l'enrofloxacin ; doxycycline leur pourcentage est successivement : 13% ; 12%.

On peut conclure que *E. coli* est :

- ✚ Sensible vis-à-vis de la Colistine (100%).
- ✚ Résistante vis-à-vis de Tétracycline et l'Erythromycine (100%).

—Donc pour le traitement des différents échantillons, il faudra utiliser comme antibiotique la Colistine (100% d'efficacité).

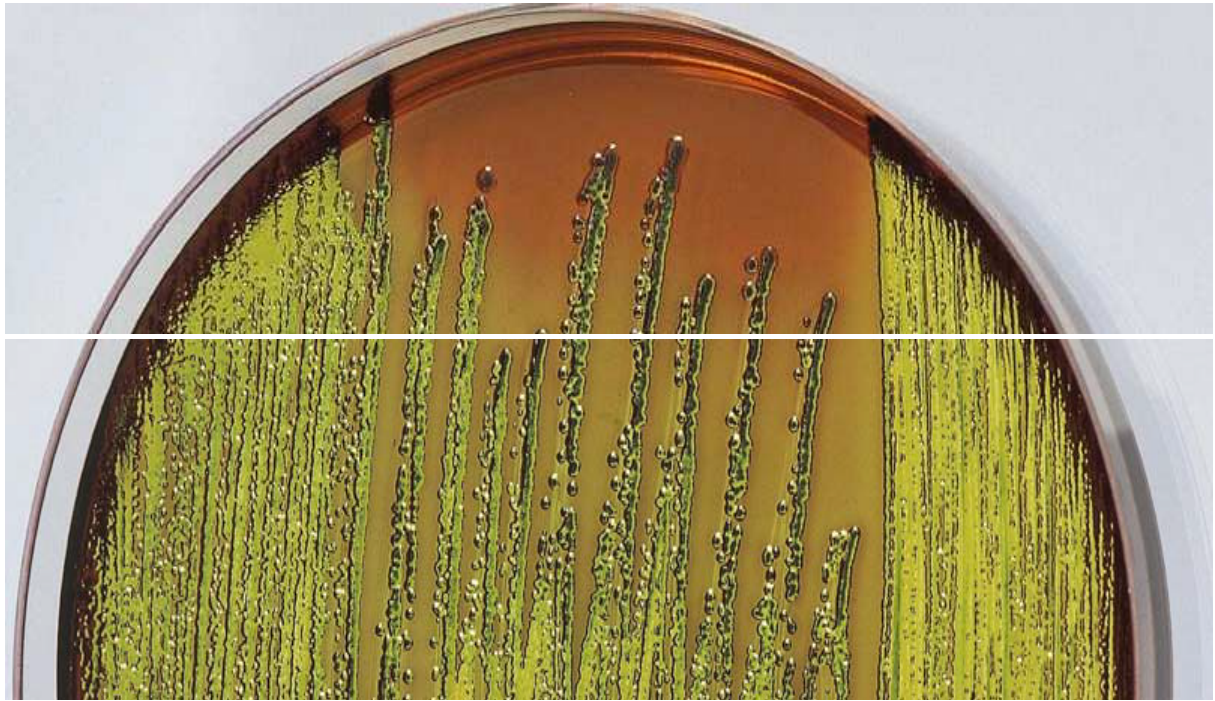
La Colistine utilisée pour le traitement est injectable.

## ***Conclusion-Discussion***

L'antibiogramme a pour but de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs

antibiotiques dans le but d'adapter au mieux l'antibiothérapie dans un contexte infectieux. Cette étude a lieu *in vitro* et il convient de considérer d'autres caractéristiques des antibiotiques, pharmacocinétiques par exemple, afin de d'avoir le maximum de chances de guérison pour le malade. Les techniques de réalisation des antibiogrammes n'ont cessé d'évoluer depuis une vingtaine d'années avec les progrès de l'automatisation. Ceci a permis de diminuer les temps d'attente dans une optique d'optimisation de la qualité des soins, mais également de standardiser au mieux les antibiogrammes. Toutefois, les anciennes techniques n'ont pas disparu, car les techniques automatisées ne sont pas parfaites :

Les bactéries anaérobies et à croissance lente poussent mal dans le cadre des techniques en milieux liquides. Ceci tend à prouver qu'un laboratoire de bactériologie devrait posséder deux techniques pour réaliser les antibiogrammes : une automatique (choix d'un automate parmi ceux sur le marché) et une manuelle, afin d'obtenir une complémentarité maximale entre ces techniques.



**Figure 4 : *Escherichia coli* en milieu gélosé EMB**

Gélose EMB (Levine)

Réf : **BK056HA**

Incubation : 24 heures / 37°C

Caractéristiques : Colonies violet foncé, bombées, présentant un éclat métallique verdâtre en  
Lumière réfléchie.