



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة عبد الحميد ابن باديس مستغانم
Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département de des sciences alimentaires

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE DE MASTER EN SCIENCE ALIMENTAIRE

Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Thème

**L'effet de certains antibiotiques pour certaines
bactéries lactiques**

Présenté par :

GANNA Ilhem

Soutenu le 14/09/ 2022 devant le jury composé de :

Président : Mr AIT SAADA Djamel	MCA	Université de Mostaganem
Examinatrice : Mme BELMEHDI Faiza	MCA	Université de Mostaganem
Encadreur: Mme DERAMCHIA Nawel	MCA	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2021 / 2022

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui ma donnée la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je remercie mon encadreur **Mme DERAMCHIA. N**, Maitre de conférences à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, pour sa patience, ses précieux conseils, la rigueur et l'orientation qu'elle m'a apportée dans la réalisation de ce travail.

Je m'adresse également mes remerciements à :

Mr AIT SAADA. D, Maitre de conférences à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, pour l'honneur qu'il m'a fait de présider ce jury.

Mme BELMEHDI .F, Maitre de conférence à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem d'avoir accepté d'apporter son jugement à ce travail.

Je remercie les techniciens de laboratoire de microbiologie Mr **Mohamed Mr Djilali** d'avoir partagé leur savoir-faire avec moi.

En fin, mes remerciements vont également à l'ensemble de mes enseignants qui m'ont accompagnée pendant mon cursus universitaire.

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :

A mes chers parent pour leur soutien, Leurs amours, leurs sacrifices, leur patience leur encouragement jusqu'a au bout durant mon cursus.

Merci !

À la source de la tendresse de patience et de générosité, Ma mère "**CHERIFA**". À mon père "**NOUREDDINE** " qui m'appris que la patience est Le Secret du succès.

A mes très chères frères **MOHAMED FODIL** et **ADEM RAYEN**, et à ma sœur **ABIR** qui m'ont aidé et donné le courage.

A mes très chères amis **AMEL**, **MANEL**, **HADJAR**, **IKRAM** et aussi **MOHAMED CHERIF** qui m'a soutenue tout au long de ce projet.

A toutes les personnes qui ont participés à l'élaboration de ce travail a tous ceux que j'ai omis de citer.

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Résumé.....	
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur les Bactéries lactiques

1.1. Historique.....	3
1.2. Définition.....	3
1.3. Habitat.....	3
1.4. Caractéristiques générales des bactéries lactiques.....	4
1.5. Classification.....	4
1.6. Familles et principaux genres des bactéries lactiques	5
1.6.1. Le genre Lactobacillus	5
1.6.2. Le genre Lactococcus	6
1.6.3. Le genre Streptococcus	7
1.6.4. Le genre Enterococcus.....	8
1.6.5. Les genres Leuconostoc, Oenococcus et Weissella.....	9
1.6.6. Le genre Bifidobacterium.....	11

Chapitre 2 : La résistance bactérienne aux antibiotiques

1.1. Définition.....	12
1.2. Mode d'action des antibiotiques.....	12
1.3. Critères de classification des antibiotiques.....	14
2. Les antibiotiques.....	15
2.1. Inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane	15
2.1.1. Pénames.....	15
2.1.2. Céphèmes.....	18
2.1.3. Polymixines.	19
3. La résistance aux antibiotiques.....	19
4. Evaluation de l'antibiorésistance	22
5. Le problème de l'antibiorésistance chez les bactéries lactiques.....	22

Partie expérimentale

Matériel et méthode

1. Produits et matériels.....	24
2. Origine des bactéries utilisées.....	25
3. Milieux de culture.....	26
3.1. Revivification des souches.....	26
3.2. Identification des souches utilisées	26
3.3. Test macroscopique.....	26
3.4. Test microscopique.....	26
3.5. Caractères biochimiques.....	27
4.1. Préparation de la culture de 18 h des souches lactiques.....	27

4.2. étude de l'antibiorésistance.....27

Résultats et discussions

1. confirmation de la pureté des souches et leur appartenance au groupe lactique.....30

2. Antibiogramme.....36

3. Activité antibiorésistance38

3.1. L'Activité antibactérienne vis-à-vis céfotaxime.....39

Conclusion.....41

Référence bibliographique

Annexe.....

Liste des abréviations

% : pourcentage.

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

ARN: Acide Ribonucléique.

BL : Bactérie lactique.

BN : Bouillon nutritive.

C° : Degré celçus.

CF : Céfotoxime.

C₂H₆OH : Ethanol.

CL : Colistine.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

E.coli : Escherichia coli.

EFSA : European food safety authority

g : Gramme

GN : gélose nutritive.

H : Heure

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

MH : muller Hinton

ml : Millilitre.

Mm : millimètre.

mn : Minute.

MRS : de Man, Rogosa et scharpe.

PCR : polymerase chain reaction.

pH : Potentiel hydrogène.

R : Résistance.

S : Sensible.

µg : microgramme.

Liste des figures

-Figure N°1 : Lactobacillus casei au microscope électronique	06
-Figure N°2 :Lactococcus lactis au microscope électronique.....	07
-Figure N°3 : Streptococcus thermophilus, au microscope électronique.....	08
-Figure N°4 : Enterococcus faecalis au microscope électronique.....	09
-Figure N°5: Leuconostoc mesenteroides au microscope électronique.....	10
-Figure N° 6: Bifidobacterium sp au microscope électronique.....	11
-Figure N°7 : Mode d'action des antibiotiques	14
-Figure N°8: Schéma illustrant le développement de la résistance aux antibiotique.....	20
-Figure N°9: Relations entre l'administration d'antibiotique et l'exposition des flores bactériennes chez l'animal.....	21
-Figure N°10 : Aspect des souches lactiques pure en milieu MRS liquide.....	31
-Figure N°11 : aspect macroscopique des souches lactiques en milieu MRS solide.....	32
- Figure N°12 : Observation microscopique des bactéries lactiques après coloration de Gram Avec un grossissement (G : X100).....	34
-Figure N°13 : Résultats de test de la catalase pour identifier les bactéries lactiques.....	35
-Figure N°14 : résultat d'antibiogramme de différentes souches de BL vis-à-vis de différent Antibiotique.....	38
-Figure N°15 : Interaction entre les souches lactiques et céfotaxime.....	39

Liste des tableaux

- Tableau 01 : familles et principaux genres des bactéries lactiques	05
- Tableau 02 : les antibiotiques des bêta-lactamine (les pénèmes).....	16
- Tableau 03 : les antibiotiques des bêta-lactamine (céphalosporine 3ème génération	18
- Tableau 04 : les antibiotiques de la famille des polymyxines	19
- Tableau 05 : Les produits chimique et milieux utilisé lors de cette expérience	24
- Tableau 06 : Liste de l'appareillage utilisé lors de l'expérimentation.....	25
- Tableau 07 : L'origine et les codes des souches lactiques sélectionner et étudier.....	25
- Tableau 08 : Les différents disques d'antibiotique utilises.....	28
- Tableau 09 : Solution mère des antibiotiques.....	29
- Tableau 10 : Résultats de l'étude morphologique et biochimique des souches de bactéries lactiques	36
- Tableau 11 : antibiogramme des bactéries lactiques	38

Introduction Générale

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de bactéries bénéfiques (lactobacillus, Enterococcus, streptococcus.....) (**Lettat, 2011**). Elles sont considérées comme une flore intestinale normale d'Homme et d'animal et elles ont toujours montré un effet bénéfique sur la santé en agissant sur l'équilibre de la flore intestinale.

Ces microorganismes ubiquitaires sont susceptibles d'être retrouvés dans tous types d'habitat. Elles accompagnent l'activité humaine au quotidien, en temps que bactéries de la flore commensale, de la flore intestinale ou de la flore alimentaire.

Les bactéries lactiques sont connues pour avoir diverses fonctions bénéfiques telles que l'activité anti-tumorale, réduction du cholestérol sérique, stimulation du système immunitaire, amélioration de la résistance contre les agents pathogènes et la prévention de la diarrhée du voyageur (**Lee et al., 2008**). L'un des effets favorables des bactéries lactiques c'est la production de métabolites aux propriétés antimicrobiennes telles que les acides organiques, le dioxyde de carbone et le di acétyle. Elles jouent un important rôle hygiénique en abaissant le pH et en sécrétant une variété de composés inhibiteurs qui empêchent le développement de bactéries indésirables (**Cenatiempo et al., 1996; Zarour et al., 2013**)

Ainsi de nombreux genres ont un grand intérêt biotechnologique et sont largement utilisées dans des procédés d'élaboration de produits alimentaires destinés à l'homme ou l'animal (**Gérald et al., 2001**).

A l'heure actuelle, les bactéries lactiques sont recherchées pour leurs qualités nutritionnelle et thérapeutique dans des préparations appelées probiotiques. Ces derniers sont utilisés comme alternative aux antibiotiques qui induisent chaque année des échecs thérapeutiques chez l'homme et l'animal à cause de phénomène d'antibiorésistance qui s'accroît rapidement.

Vu que la résistance bactérienne est devenue sans doute un des gros défis que la médecine moderne doit surmonter. Sachant que les bactéries évoluent beaucoup plus rapidement que le rythme auquel de nouveaux antibiotiques sont conçus, y a-t-il d'autres avenues qui pourraient être exploitées pour combattre la résistance bactérienne.

Ce travail a pour objectif de mettre la lumière sur l'effet de certains antibiotiques pour certain Bactéries lactiques Ce travail comprend deux parties : une partie théorique qui résume des généralités sur les bactéries lactiques et leur activité antibiorésistance sera détaillée dans le 2ème chapitre. La 2ème partie se consacra aux tests réalisés et leurs résultats obtenus avec sa discussion.

Chapitre 1

Généralité sur Les Bactéries lactiques

1.1. Historique :

Les bactéries sont de très anciens micro-organismes dont les ancêtres (**Dridier et Prevost, 2009**). Ils ont été utilisés pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans, sans pour autant comprendre la base scientifique de leur utilisation, mais tout en essayant de produire des aliments de meilleure conservation et de meilleure qualité (**Sallofe, 1994**).

Ce n'est qu'à la fin du 19^{ème} siècle, époque des grandes découvertes de la microbiologie, que certaines chercheurs ont isolé un Streptocoque (**Poulain, 1994**), comme Von Freudeinreich en 1897. La production des cultures des bactéries et l'emploi de ferment se développent au début du 20^{ème} siècle (**Dridier et Prevost, 2009**).

1.2. Définition :

« Les bactéries lactiques constituant l'un des groupes incontournables de la microbiologie alimentaire (**Dridier et Prevost, 2009**). Défini pour la 1^{ère} fois par **Orla-Jensen (1919)**, il réunit plusieurs genres caractérisés par leurs capacités à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (**Novel, 1993**).

Micro-organismes ubiquitaires, les bactéries lactiques se trouvent dans différents environnements (**Dellaglio et al., 1994; Matamoros, 2008**), ce sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (**De Roissart, 1986**). Elles jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers (**Raynaud, 2006**) produisant de l'acide lactique comme produit principal et vaginale (humain ou animale). »

1.3. Habitat :

Les bactéries lactiques sont très abondantes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, de végétaux ou des alimentsensemencés par les végétaux. Elles se développent avec

la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (**Leveu et Bouix, 1993; Hassan et Frank, 2001; Hadaf, 2012**). Ce qui a conduit à la reconnaissance de leur statut GRAS (**Generally Recognized As Safe**).

1.4. Caractéristiques générales des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des bactéries possédant une réponse positif à la coloration de Gram, immobiles, non sporulées, au point de vie enzymatique ,catalase oxydase et nitrate réductase négative , anaérobies ou aérotoleérantes (**Laurent et al., 1998**), se présentant sous formes déférentes, cocci ou bâtonnets (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

Elles ont des besoins complexes en facteur de croissance : vitamine B, acide aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques. Elles se caractérisent par un métabolisme exclusivement fermentaire les conduisant à produire à partir du glucose des quantités importantes d'acide lactique, accompagné dans certains cas d'autres métabolites (éthanol, CO₂, autres acides organiques). Elles ont une faible capacité de biosynthèse (**Luquet, 1986**).

1.5. Classification :

La classification phénotypique des bactéries lactiques est largement basée sur la morphologie, le mode de fermentation de glucose, la croissance à différentes températures, la capacité de croissance à de hautes concentrations de sel (6.5%, 18%), la tolérance aux pH acides, alcalins et à l'éthanol, la configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose, l'hydrolyse de l'arginine, la formation d'acétone , etc. Les marqueurs chimio-taxonomiques comme la composition en acides gras et les constituants de la paroi cellulaire peuvent aussi être utiles dans la classification (**König et Fröhlich, 2009**).

1.6. Familles et principaux genres des bactéries lactiques (Brenner et al ,2005) :

Phylum BXIII : Firmicutes

Classe I : Bacilli

Ordre II : Lactobacillales

Familles	Principaux genres
Lactobacillaceae	Lactobacillus sp., pediococcus sp.
Leuconostocaceae	Leuconostoc sp., oenococcus sp weissella sp.
Streptococaceae	Streptococcus sp., Lactococcus sp.
Carnobacteriaceae	Carnobacterium sp.
Enterococcaceae	Enterococcus sp., Tetragenococcus sp.,
Vagococcus sp.	Aerococcaceae Aerococcus sp.

Tableau 01 : familles et principaux genres des bactéries lactiques

1.6.1. Le genre Lactobacillus :

Le genre lactobacillus a été proposé par Beijerinck en 1901. Il est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes , immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (**Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al, 1994**).

Le genre Lactobacillus a été subdivisé selon leur type fermentaire en trois groupes selon la classification de Orla-Jensen en trois groupes remaniés par Kandler et Weiss ; et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (**Tamime,2002**).

□ **Groupe I « Thermobacterium »**

Il comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont Lb. Helvétius, Lb. Delbruecki , Lb. acidophilus.

□ **Groupe II « Streptobacterium »**

Il regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont Lb. casei, Lb. curvatus, Lb. sake et Lb. plantarum.

□ **Groupe III « Betabacterium »**

Ce sont des lactobacilles hétéro fermentaires. Il comporte les espèces Lb. Fermenteur , Lb. brevis et Lb. Sanfransicensis

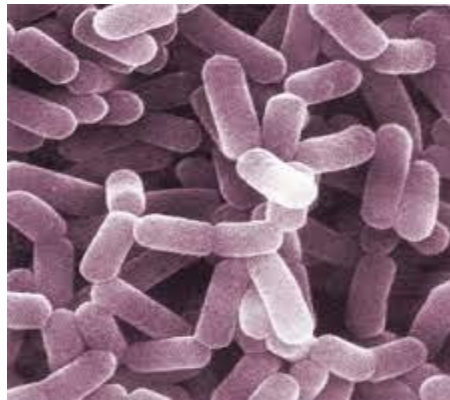


Figure N°1 :Lactobacillus casei au microscope électronique (Corrieu et Luquet ;2008)

1.6.2. Le genre Lactococcus :

La première espèce de Lactococcus décrite fut Bacterium lactis par Lister (1873). Elle fut ensuite renommée Lactococcus lactis par **Schleifer et al (1985)**. Le genre Lactococcus comprend 7 espèces et 4 sous espèces (**Euzeby ,2011**).

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paires ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), seul *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* produit le diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable à se développer à 10°C mais pas à 45°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables à se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (**Tamime, 2002**).

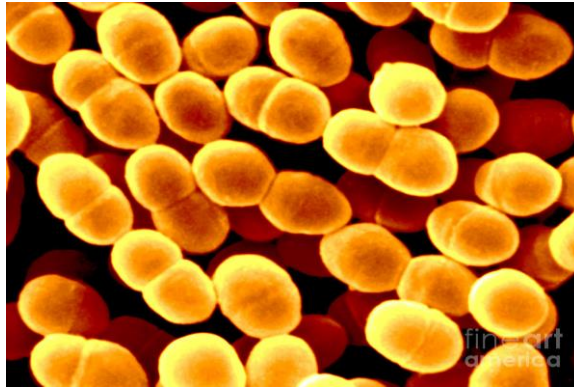


Figure N°2 : *Lactococcus lactis* au microscope électronique (Corrieu et luquet , 2008).

1.6.3. Le genre Streptococcus :

Les espèces de *Streptococcus* ont été parmi les premières bactéries à être reconnues par les microbiologistes en raison de leur implication dans un grand nombre de maladies humaines et animales (**Brown, 1919**).

Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plupart des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres streptocoques (**Scheilfer, 1987**).

Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2 µm avec une disposition en paires ou en chaînes longues. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Le peptidoglycane est du groupe A et leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables à se développer à 15°C et à pH : 9,6. Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes.

La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres streptocoques », mais ensuite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Stiles et Holzappel, 1997).



Figure N°3 : *Streptococcus thermophilus*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008).

1.6.4. Le genre *Enterococcus* :

Ce genre forme des coques, généralement groupés ou isolés, en paire, en chaînettes ou en amas et leur morphologie peut varier selon les conditions de culture (Devriese et al, 1993).

Il se caractérise par sa tolérance à 6,5% de NaCl, au pH 9,6 et par la croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C (Zhang et Cai, 2014). Les entérocoques peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Tamime, 2002 ; Ho et al, 2007).



Figure N°4 : Enterococcus faecalis au microscope électronique (Wallace et al ,2003).

1.6.5. Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella* :

Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*; ressemblent le plus étroitement au genre *Lactobacillus*. Ils sont Gram positif, catalase négative et anaérobie facultatif. Le genre *Weissella* regroupe deux types morphologiquement différents : les bacilles (anciennement les lactobacilles hétérofermentaires) et les coques de forme ovoïde (*Leuconostocs*, *Oenococcus* et *Streptococcus*) : *Weissella paramesenteroides* et *Weissella hellénisa* (**Holzapfel, 2003**).

Les leuconostokes sont également anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente, le développement des leuconostokes entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les leuconostokes principalement *Ln. mesenteroides* ssp. *cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et du CO₂, des substances aromatiques telles que l'acétylène et l'acétoïne à partir des citrates du lait (**Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008**).

Récemment, l'espèce *Leuconostoc oenos* isolée de vins a été classée dans un nouveau genre *Oenococcus oeni* et certaines espèces de lactobacilles hétérofermentaires ont été groupées avec *Leuconostoc paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

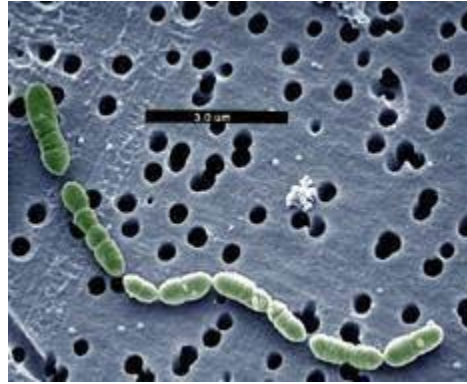


Figure N°5: *Leuconostoc mesenteroides* au microscope électronique .(Wallace et al , 2003).

1.6.6. Le genre *Bifidobacterium* :

Traditionnellement, le genre *Bifidobacterium* a été associé aux bactéries lactiques. Par la suite, il a été séparé en raison du contenu G+C supérieur à 50% et affecté au phylum des Actinobacteria (**Gomez et Malcata, 1999 ; Leahy et al, 2005**). Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. (**Klein et al, 1998**).

Elles ont généralement un PH optimal de croissance autour de 6.5 à 7 et une température de croissance comprise entre 37°C et 41°C. Elles ont la forme irrégulière d'un V ou une morphologie bifide en forme de Y. Elles sont hétérofermentaires et dégradent les hexoses en produisant de l'acide lactique et acétique (**Gomez et Malcata, 1999 ; Leahy et al ,2005**).

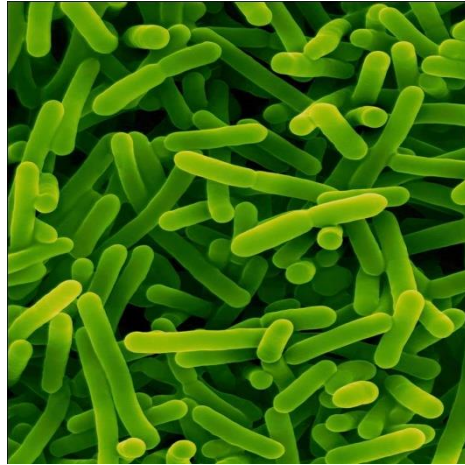


Figure N° 6: Bifidobacterium sp au microscope électronique (wallace et al , 2003).

Chapitre 2

La résistance bactérienne aux antibiotiques

1.1. Définition :

« Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'inhiber synthétisée chimiquement, capable d'origine microbienne spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe, (**Gogny et al, 2001; Morin et al, 2005**).

Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (**Ogawara, 1981**). »

1.2. Mode d'action des antibiotiques:

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés. (**Figure 7**), (**Mevius et al, 1999; Oxoby, 2002**).

Les antibiotiques peuvent agir sur:

. **La paroi bactérienne:** Bacitracine, Pénicilline et Céphalosporines agissent sur les germes en croissance inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité, ce qui lui permet de résister à la forte pression Osmotique intra cytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire. La nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne (**Zeba,2005**).

. **La membrane cellulaire:** en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur

.**L'ADN:** Certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. L'actinomycine bloque la progression de l'ARN polymérase.

Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques (**Flandrois et al, 1997**), les quinolones et fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase (**Chopra, 1998**).

.Le ribosome bactérien: sur les ribosomes: ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse petite sous-unité des ribosomes (**Hermann, 2005**). Les phénicol (chloramphénicol, thiamphénicol) bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grosse sous-unité du ribosome bactérien. Les cyclines (tétracycline, doxycycline) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur la petite sous-unité (**Flandrois et al, 1997**) les macrolides et les kétolides (érythromycine azithromycine) bloquent l'élongation de la chaîne peptidique (**Nilius et Ma, 2002**). La puromycine copie l'extrémité d'un ARNt, prend sa place dans le ribosome et bloque l'élongation de la chaîne peptidique

.Autres: en agissant tant qu'antimétabolites bactériens (C'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries).

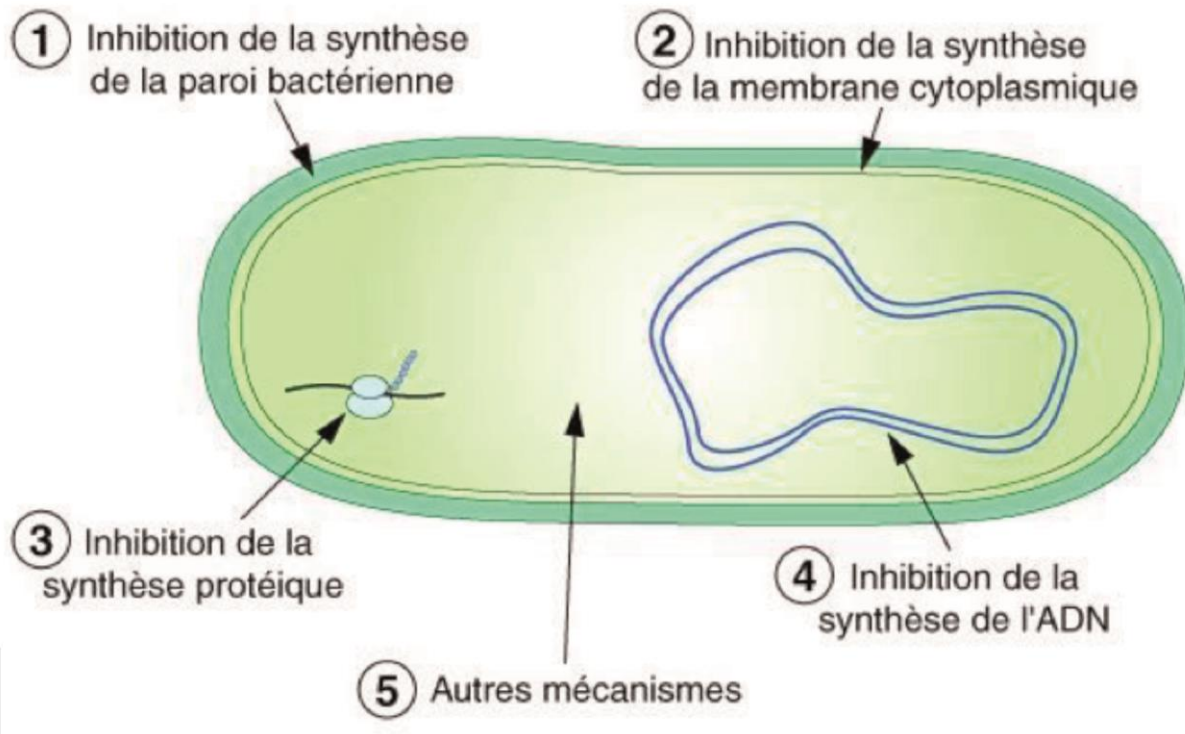


Figure N°7 : Mode d'action des antibiotiques

1.3.Critères de classification des antibiotiques :

La classification des antibiotiques 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.

.Le spectre d'activité: liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)

.La nature chimique: très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex: cycle bêta-lactame) sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse.

La classification selon la nature chimique permet de classer les antibiotiques en familles (beta-lactamines, aminosides, tétracyclines...etc.).

2. Les antibiotiques :

2.1. Inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane :

β lactamines, glycopeptides et fosfomycine.

2.1.1. Pénames :

Ce groupe d'antibiotiques se subdivise en plusieurs sous-groupes représentés sur les tableaux suivants .(**Le MINOR L . ,NERON M**).

Sous groupes	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Pénicilline G et ses dérivés	Parentérales : -Benzyl Pénicilline (péni G) -Benzyl Pénicilline-procaine -Bénéthamine-benzylpénicilline -Benzathine- benzyl Pénicilline	Cocci Gram + : Streptocoques (groupe A, C, G et B), Pneumocoques sensibles. Cocci Gram- : Neisseria (surtout le méningocoque).	Paroi bactérienne, par toxicité sélective : Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique. L'inhibition des PLP aboutit à
	Orales : - Phénoxy méthyle pénicilline (pénicilline V) - Clométocilline	Bacilles Gram+: Corynebacterium diphtheriae, Bacillus anthracis Listeria monocytogenes ,Anaérobies.....	
Pénicillines M (antistaphylococquies)	- Méthicilline - Oxacilline - Isoxazolyl-pénicillines) : Cloxacilline, Dicloxacilline, Flucloxacilline.....	Staphylocoque producteur de pénicillinase. Staphylocoque MRSA- (sensibles à l'Oxacilline)	

<p>Aminopénicillines (pénicillines à large spectre)</p>	<p>- Ampicilline - Dérivés de l'ampicilline : Bacampicilline, Métampicillin Pivampicilline, Pivampicilline - Amoxicilline, Epicilline</p>	<p>-Entérobactéries sauf : Klebsiella, Enterobacter, Serratia et Protéus indole+ . -Neisseria méningitidis, Haemophilus influenzae b sensible (pénicillinase-) -Inactifs sur Pseudomonas et Acinetobacter Streptococcus A, C, G</p>	<p>l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes bizarroïdes (rondes ou filamenteuses) qui aboutissent à la</p>
<p>Carboxy-pénicillines</p>	<p>- Carbénicilline, Ticarcilline</p>	<p>-Pseudomonas aeruginosa). -Bacilles à Gram-résistants à l'ampicilline. -Entérobactéries productrices de céphalosporinases : Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Proteus indole+.</p>	<p>lyse bactérienne.</p>
<p>Acyl-amino - pénicillines (Uréido-pénicillines)</p>	<p>- Azlocilline - Mezlocilline - Pipéracilline</p>	<p>Entérobactéries productrices de céphalosporinases. Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter</p>	

Amidino-pénicillines	- Mécillinam -Pivmécillinam	Actifs uniquement sur les bacilles à Gram-, Pas d'action sur les Cocci à Gram+.	
Pénicillines sulfones : inhibiteurs de β lactamases utilisées en association avec une βlactamine	Ampicilline+ Sulbactam Pipéracilline+ Tazobactam	Bactéries à Gram- fermentaires Bactéries à Gram- oxydatifs	

Tableau 02 : les antibiotiques des beta-lactamine (les pénèmes)

2.1.2. Céphèmes :En général les céphèmes , céphamycines et oxalcéphèmes, en dépit de leurs différences de structure sont souvent désignés en céphalosporines et classés selon leur activité antibactérienne en générations .Ce sont tous des produits à large spectre mais dont l'intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif.

Générations	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Céphalosporines de 3ème génération	Injectables Céfotaxime, Céftizoxime, Céftriaxone Latamoxef (Oxacephem), Ceftazidime,Cefménoxime, Cefpirome, Cefsulodine,Cefepime, Cefpirone Orales: Céfixime	-Bacilles à Gram- -Cocci à Gram +:Pneumocoque, Streptocoque (sauf Entérocoque) -Cocci à Gram - -Certains sont actifs sur Pseudomonas (Ceftazidime).	Le mode d'action des céphalosporines est identique au mode d'action des autres β lactamines (voir pénames)

Tableau 03 : les antibiotiques des beta-lactamine (céphalosporine 3ème génération)

2.1.3 Polymixines (4,5) : Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Polymixines	- Polymixine B - Polymixine E ou colistine	Bacilles à Gram- sauf : Proteus, Providentia, Serratia marcescens Morganella morganii et Edwardsiella tarda Les bactéries à Gram+ et les mycobactéries sont naturellement résistantes.	Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique.

Tableau 04 : les antibiotiques de la famille des polymixines

3. La résistance aux antibiotiques : Dans la nature, des bactéries peuvent disposer de mécanismes de résistance contre des molécules auxquelles elles sont naturellement confrontées dans leur environnement, en particulier certains antibiotiques sécrétés par les plantes ou champignons pour leur propre défense (la pénicilline et de nombreux antibiotiques sont initialement issus de plantes ou champignons). La sécrétion d'antibiotiques (contre laquelle la bactérie doit donc résister) est aussi une stratégie développée par certaines bactéries pour éliminer leurs compétitrices de leur environnement. Ces bactéries productrices d'antibiotiques ont développé plusieurs enzymes et mécanismes leur permettant de résister à la molécule qu'elles produisent. De manière générale, la résistance aux antibiotiques résulte d'une évolution par sélection naturelle, les antibiotiques exerçant une pression sélective très forte, en éliminant les bactéries sensibles. On suppose que le cas le plus fréquent est une adaptation rapide des bactéries à un nouvel écosystème, qui naît de mutations génétiques aléatoires (**Carattoli, 2001**) leur permettant d'y survivre, et de continuer à se reproduire, en transmettant à leur descendance leurs gènes de résistance (transfert vertical) (**Figure 7**), ou qui se fait suite à des échanges de gènes de

résistances entre des bactéries (transformation génétique, transduction ou conjugaison) qui habitent dans divers écosystèmes, y compris les humains, les animaux et l'environnement. Ce phénomène de changement génétique, soit par mutation ou après acquisition des gènes de résistance par transfert horizontal, est appelé antibiorésistance qui est définie selon **Avorn et al., (2001)** par la capacité permettant à un microorganisme de croître en présence d'une concentration plus élevée d'antibiotique que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce.

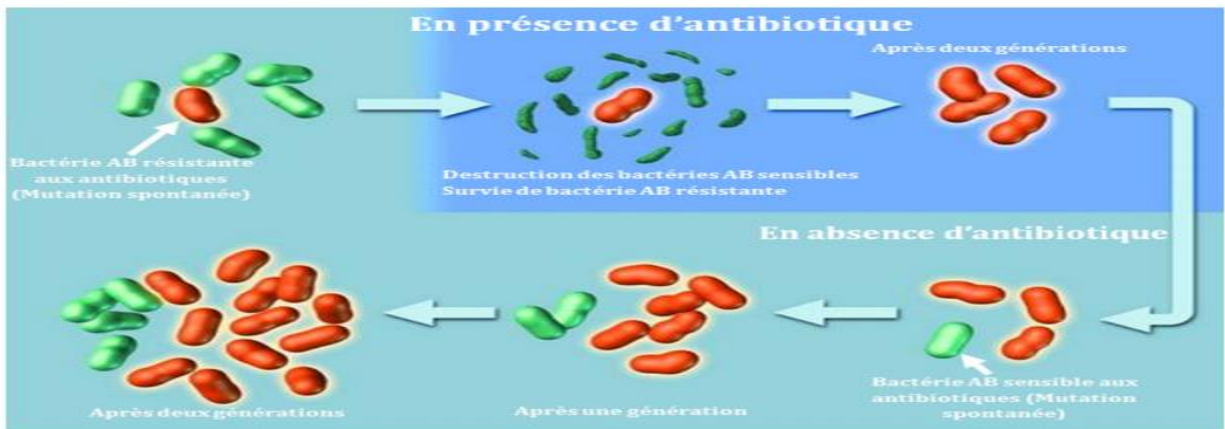


Figure N°8: Schema illustrant le developpement de la resistance aux antibiotiques (George et al.,1998).

Commençant a l'angle supérieur gauche, une mutation spontanée dans une population de bactéries sensible aux antibiotiques conduit a une résistance dans une seule bactérie. La présence d'antibiotiques provoque une sélection des bactéries résistantes. Cependant en absence d'antibiotique (en bas à droite), les bactéries résistantes peuvent perdre leur résistance par une mutation spontanée. Apres plusieurs générations, les proportions de bactéries sensibles et résistantes atteignent un nouvel équilibre.

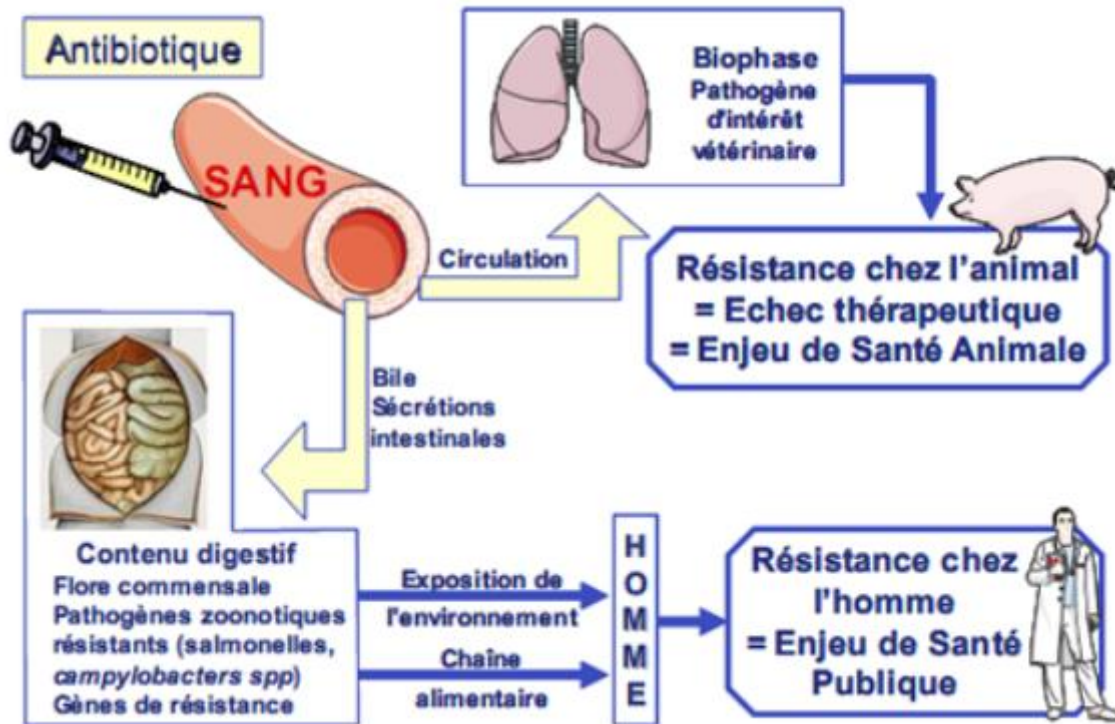


Figure N°9: Relations entre l'administration d'antibiotique et l'exposition des flores bactériennes chez l'animal (Kesteman et al, 2009)

Le développement de la résistance aux antibiotiques au niveau des flores cibles (foyers infectieux) et non cibles (flore commensale digestive) aura un impact sur la santé animale et la santé publique. La fraction de l'antibiotique atteignant le tube digestif exerce une pression de sélection importante sur les bactéries de l'écosystème du tube digestif distal. Cela peut conduire à l'émergence de résistance de germes zoonotiques (*Salmonella*, *E. coli*,) et /ou la constitution d'un réservoir de gènes de résistance chez des bactéries non pathogènes (bactéries lactiques) pour l'homme mais qui peuvent servir de vecteurs de diffusion à ces gènes de résistance vers l'environnement ou la chaîne alimentaire.

4. Evaluation de l'antibiorésistance :

Les tests de sensibilité bactérienne les plus répandus ont pour but d'étudier l'effet bactériostatique ou bactéricide des antibiotiques (**Chengappa et al., 1990 ; Eberlin et al., 1994 ; Jorgensen et al., 1999**). Pour chaque souche bactérienne, on peut définir une concentration minimale inhibitrice (CMI) qui correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe. Elle est donc associée à un phénomène macroscopique, ce qui explique sa relative facilité d'obtention et son universalité.

Il existe deux grandes familles de tests pour étudier l'effet bactériostatique ou bactéricides:

Ceux utilisant une méthode quantitative aboutissant à un résultat chiffré correspondant à une CMI: ce sont les tests par dilution,

Ceux utilisant une méthode qualitative permettant de classer les bactéries en sensible(S), ou résistante(R) : ce sont les tests par diffusion.

Toutes ces méthodes doivent suivre des règles de standardisation rigoureuses pour pouvoir être reproductibles, interprétables et comparables au sein du laboratoire, du pays ou entre les Etats. Toutefois il existe autres méthodes pour l'étude de l'antibiorésistance utilisant des méthodes génotypiques permettant de détecter les déterminants génétiques de la résistance. La PCR (Polymérase Chain Réaction) est classiquement utilisée. Cependant le développement des techniques de biologie moléculaire a permis de développer des puces à ADN qui peuvent détecter un large panel de gènes de résistance (**Ojha et al., 2008**).

5. Le problème de l'antibiorésistance chez les bactéries lactiques :

Des études récentes décrivent que plus de 1000 espèces bactériennes colonisent le tractus gastro-intestinal humaines et animales (**Tuohy et al., 2009**), y compris les bactéries commensales et pathogènes, Les bactéries lactiques représentent la plupart de ces bactéries naturellement présentes dans cet écosystème et constituent la plus grande densité cellulaire décrite jusqu'à aujourd'hui (10¹¹s), nombre supérieur au nombre total de cellules humaines constituant l'organisme (**Backhed et al., 2005**). Elles sont susceptibles d'être retrouvés naturellement dans

tous types d'environnement (lait, viande, légumes, sol...), comme elles peuvent être aussi largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire ou utiliser comme probiotique.

La résistance aux antibiotiques pour ces espèces bactériennes pourrait être bénéfique pour l'hôte (humain ou animal) en aidant à maintenir l'équilibre dans le tractus gastro-intestinal en cas de diarrhée causée par un traitement d'antibiotiques. Cependant, il y a un grand risque associé à la capacité de transmettre les facteurs de résistance (gènes) horizontalement à d'autres bactéries commensales ou pathogènes (**Teuber et al., 1999; Salyers et al., 2004 ; Maria et al., 2010**). De nombreux articles scientifiques rapportent que les gènes de résistance aux antibiotiques trouvés chez les agents pathogènes de l'homme sont identiques à ceux trouvés chez les bactéries lactiques (**Perreten et al., 1997, Salyers et al., 2004, ; Wang et al., 2006 ; Maria et al., 2010**). Chez *Listeria innocua* la résistance acquise à la tétracycline est la conséquence d'un transfert horizontal par conjugaison du plasmide conjugatif pRE25 originaire d'*Enterococcus faecalis* ou *Streptococcus* (**Vicente et al., 1988; Facinelli et al., 1993; Perreten et al., 1997**). Chez *Neisseria meningitidis* cette résistance est due à un autre plasmide qui porte le gène tetM trouvé chez les lactobacilles (**Danielsen et al., 2002 ; Gevers et al., 2003 ; Rizzotti et al., 2009**). Les espèces de bactéries lactiques peuvent donc agir comme des "réservoirs" de gènes de résistance transmissibles aux bactéries colonisant le tractus gastro-intestinal humain via la chaîne alimentaire (**Witte et al., 1997 ; Mathur et Singh, 2005; Ammor et al., 2007**).

Selon le Groupe FEEDAP (additifs et produits ou substances utilisés dans alimentation animale) de EFSA (European Food Safety Authority), toutes les bactéries destinées à être utilisées comme additifs alimentaires ou même dans l'industrie agro-alimentaire en Europe ne doivent porter aucune forme d'antibiorésistance, la sensibilité de ces bactéries à un éventail d'antibiotiques doit être examinée avant toute utilisation (**EFSA, 2008**). L'utilisation abusive d'antibiotiques ou comme promoteurs de croissance dans l'élevage est interdite (**Teuber, 2001; Wegener, 2003 ; Commission Européenne, 2006**), en raison de leur potentiel à propager les gènes de résistance aux agents pathogènes humains comme *Listeria* et certains pathogènes d'Écou (**Teuber et Perreten, 2000**).

Matériel et Méthodes

❖ **Lieu de travail :**

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique de microbiologie, de l'université Abd El Hamid Ibn Badis Mostaganem, sous la direction et l'orientation du Mme Deramchia .N .

1.Produits et matériels :

Plusieurs produits et milieux de culture ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, il s'agit des milieux et réactifs suivantes.

Produit chimique	Milieux de culture
-Ethanol(C ₂ H ₅ OH). - Fushine (colorant). -Lugol (l'eau iodée). -Violet de gentiane (colorant). -l'eau oxygéné (H ₂ O ₂).	-Bouillon nutritif (PH=7,2). -Gélose MRS (PH =6,7). -Mueller Hinton agar .

Tableau 05 : les produits chimique et milieux utilisé lors de cette expérience

Appareille
-Agitateurs
-Autoclave
-Bain marin
-Balance
-Incubateur
-Microscope optique
-vortex

Tableau 06 : Liste de l'appareillage utilisé lors de l'expérimentation.

2. Origine des bactéries utilisées :

Les six (06) souches de bactéries lactiques ont été utilisées lors de cette étude dans le but de sélectionner celles qui ont une activité antibactérienne , a pour objectif de tester la sensibilité d'une souche bactérienne par rapport à un ou plusieurs antibiotiques.

ces souches ont été isolées à partir de la tractus intestinale de sardine et crevette.

Origine	Code des souches bactériennes
Le tractus intestinal de sardine et crevette	1 , 2 , 3 , T , S1MN , S2MN .

Tableau 07 : L'origine et les codes des souches lactiques sélectionner et étudier

3 .milieux de culture :

Milieu de culture utilisé pour toutes les souches lors de la réalisation de cette étude est le milieu Mrs liquide ,solide additionnée d'agar agar et Mueller Hinton agar .

3.1. Revivification des souches :

Les souches de bactéries lactiques ont été revivifiées par repiquage successif dans de bouillon nutritif dans un tube de 5ml puis incubation à 37 ° C pendant 24 h. Par la suite, ensemencée par des stries dans des boîtes Pétri contenant la gélose MRS (pH 6,5). Les cultures sont incubées à une période de 48 heures à 37°C. ces bactéries lactiques ont été identifiées par l'aspect des colonies sur gélose MRS, la coloration de Gram et la réaction de catalase.

3.2. Identification des souches utilisées :

L'identification des bactéries lactiques est établie en se basant sur l'étude de leurs caractères morphologiques (examens macroscopique et microscopique) test de coloration de Gram et la réaction de catalase.

3.3. Test macroscopique :

Ce test se manifeste par l'observation à l'œil nu sur gélose adaptée pour chaque souche et noter la couleur; la taille et l'aspect des colonies (**Bey, 2009**). L'observation macroscopique est faite après 24heures d'incubation à 37°C sur gélose MRS pour les bactéries lactiques.

3.4. Test microscopique :

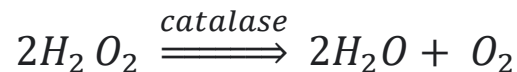
L'aspect microscopique consiste à observer la forme, taille, le mode d'association et le type de Gram des cellules après coloration de Gram. Cette dernière est une coloration classique en microbiologie, elle permet de différencier sur la base de la composition de la paroi cellulaire entre les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif (**Benbou, 2012**)

La coloration est effectuée pour chaque colonie isolée et l'observation des cellules est réalisée à Grossissement 100 en utilisant l'huile à émersion (**Voir annexe 1**).

3.5. caractères biochimiques :

□ Test de catalase :

La méthode de recherche de la catalase consiste à mettre en contact une colonie de la bactérie à tester en présence d'une goutte d'eau oxygénée sur une lame , Si elles possèdent la **catalase**, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.



4.1. Préparation de la culture de 18 h des souches lactiques :

A partir d'une culture jeune sur des boites de gélose MRS, nous avons prélevé quelques colonies avec la pipette Pasteur que nous avons suspendues dans un tube à essai contenant 05 ml de bouillon MRS (pH 6.5), puis incubé à 37°C pendant 18 heures.

4.2. Etude de l'antibiorésistance :

La résistance de nos souches de BL à été testée vis-à-vis de trois (03) antibiotiques pour diffusion sur milieu solide (MH) utilisant des disques d'antibiotiques.

Des pré-cultures ont été préparées dans le milieu Mueller Hinton et incubées à 37°C pendant 18 heures.

1ml de ces pré-culture est utilisé pour inoculer 9ml de Mueller Hinton, et le mélange homogénéisé était coulé sur une couche de milieu MH solide préalablement coulé et séché.

• Application des disques des antibiotiques :

Après le séchage de MH, les disques de papier buvard comprenant un antibiotique à une certaine concentration. Sont déposés stérilement sur la surface de milieu (03 antibiotiques par

boites pétri). Avec une pince stérile appliquer une légère pression pour assurer un contact complet du disque avec le milieu.

Antibiotiques		Familles	Cibles
Nom	Symbole		
Pénicilline	PN	Béta-lactamine	Synthèse de peptidoglycane
Céfotaxime	CF		
Colistine	CL	Polymixine	Membrane

Tableau 08 : Les différents disques d'antibiotiques utilisés

- **Pré-diffusion et incubation :**

Un délai de 15 à 30 mn de température ambiante a été observé pour permettre la pré-diffusion des antibiotiques. Ensuite les boîtes couvercles en bas, ont été portées à étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lectures et résultats :**

L'inhibition de croissance à la formation d'une zone claire (zone d'inhibition) autour des disques d'antibiotiques.

La lecture d'antibiogramme a été faite en mesurant à l'aide d'une règle graduée les diamètres d'inhibition autour des disques.

Nous considérons que pour un diamètre inférieur à 15 mm la souche est résistante (R) à l'antibiotique considéré. Pour un diamètre supérieur à 15 mm la souche est sensible (S) à l'antibiotique. (karam et karam,1994) .

Antibiotiques	Concentration des solutions		Solvants
	g/ml	m u /ml	
- Pénicilline		1 m u/ 5ml	Eau distillée stérile
- Céfotaxime	1g/ 5ml		
- Colistine		1 m u /5ml	

Tableau 09 : Solution mère des antibiotiques

Ces médicaments se présentent sous forme de poudre et solvant pour solution injectable nous avons préparé la solution et diluée chaque antibiotique avec 5 ml d'eau distillé Puis on 'a bien imbibé les disques dans chaque solution avant le déposé.

Résultats et discussion

1. confirmation de la pureté des souches et leur appartenance au groupe lactique :

Lors de cette étude de confirmation de l'identité des souches est faite par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologique physiologique et biochimique (**Carr et al., 2002**).

Test macroscopique :

L'observation macroscopique du développement de croissance des bactéries apparait sous forme de trouble homogène fumeux dans le milieu MRS liquide, ce trouble est concentré au fond du tube à la recherche des conditions anaérobiques de ces bactéries. (**Figure 10**)

Quant au milieu MRS solide , Les cultures obtenues sur les boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies.

Ces colonies sont apparues de petite taille, de forme circulaire ou lenticulaire, avec une couleur blanchâtre et d'un pourtour régulier ou irrégulier.

La figure 11 montre l'aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques cultivées sur gélose MRS.



T

A

Figure N°10 : Aspect des souches lactiques pures en milieu MRS liquide

T : Témoin **A** : culture microbienne

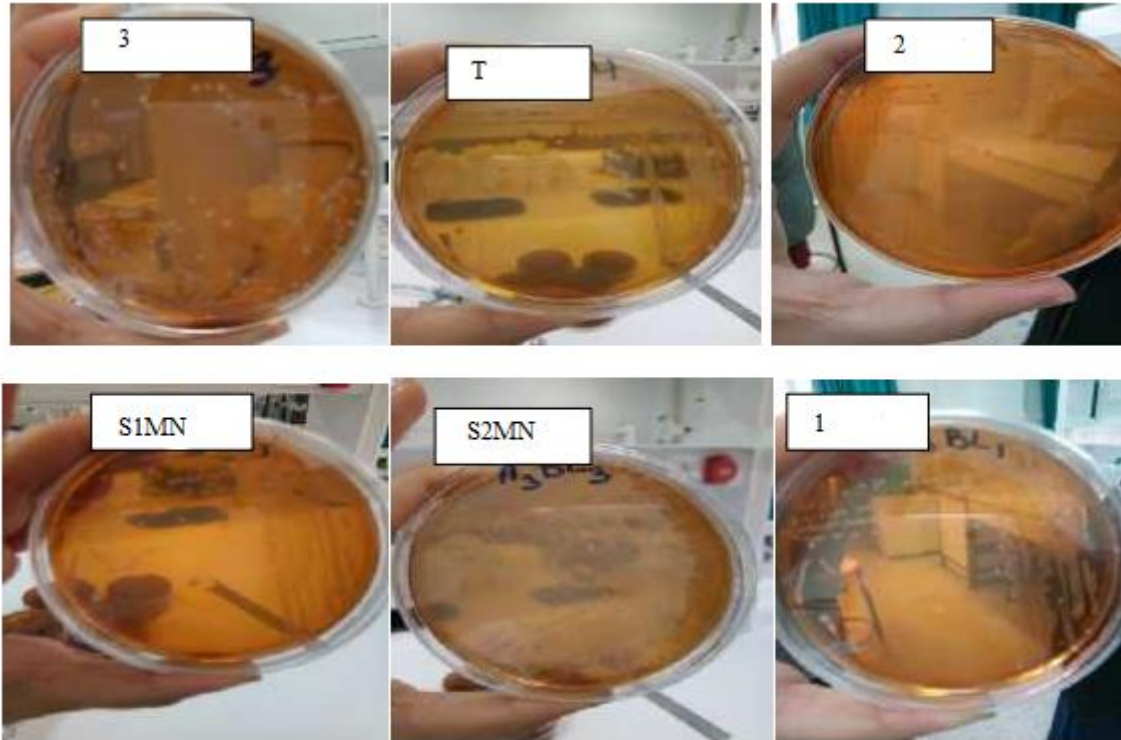


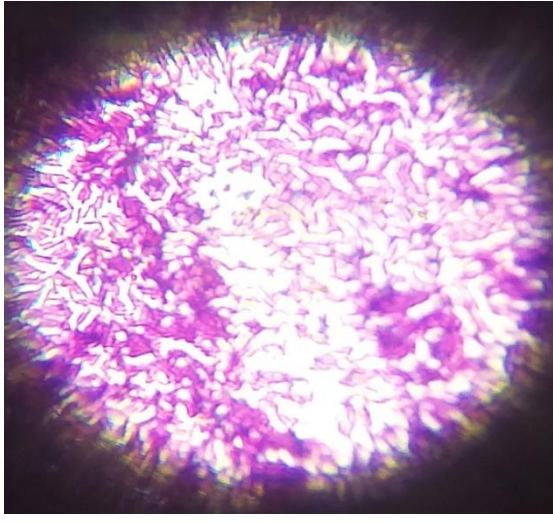
Figure N°11 : aspect macroscopique des souches lactiques en milieu MRS solide

□ **Test microscopique :**

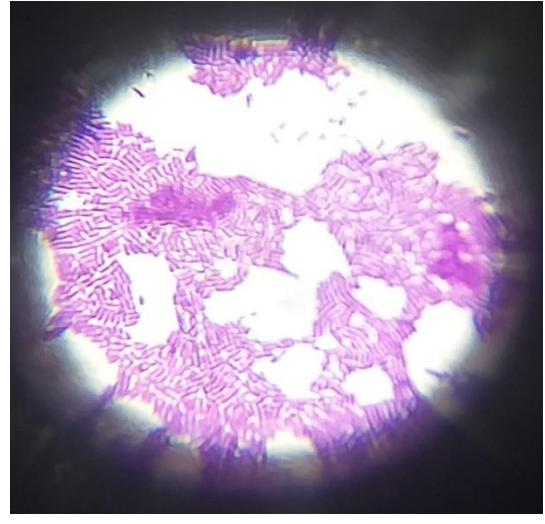
Les six (06) isolats ont été retenus pour réaliser une coloration de Gram.

L'observation microscopique a révélé que les colonies isolées et purifiées sont à Gram positif, apparaissant sous formes des bacilles.

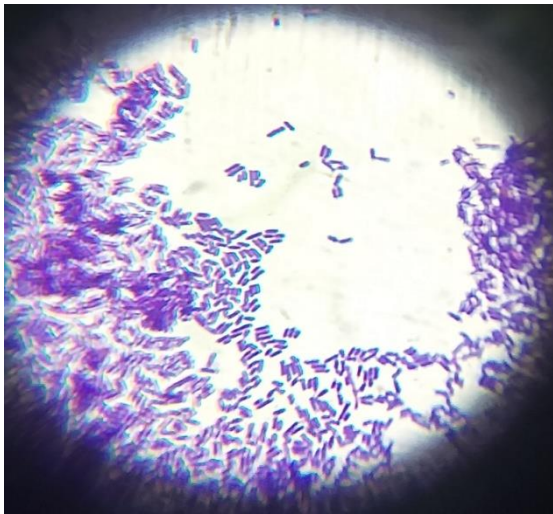
La figure (12) montre l'aspect microscopique après la coloration de Gram de souches de bactéries lactiques (grossissement X100).



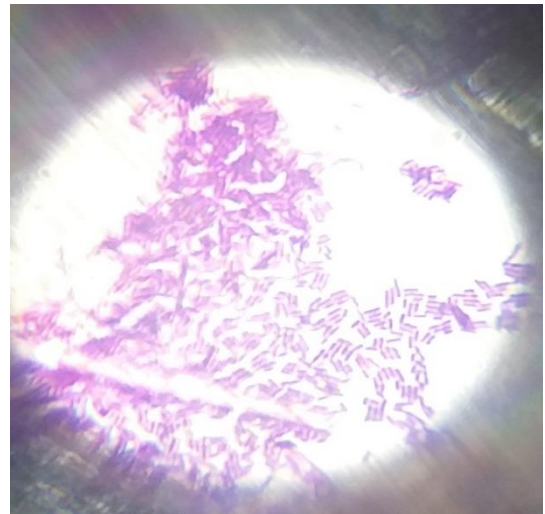
1



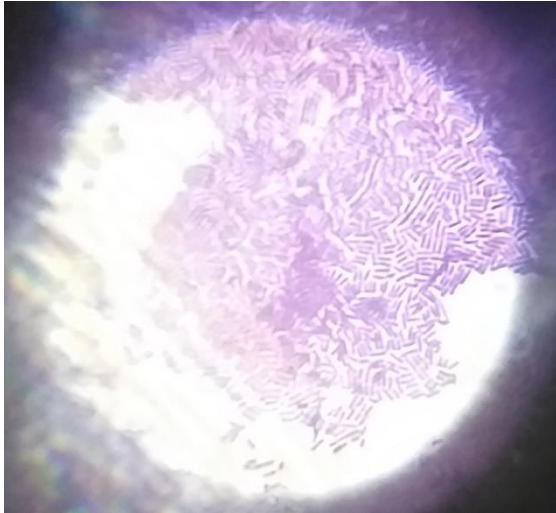
2



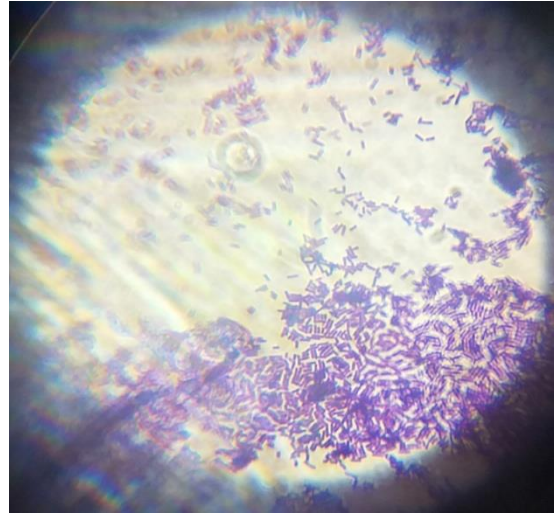
3



S1MN



S2MN



T

Figure N°12 : Observation microscopique des bactéries lactiques après coloration de Gram Avec un grossissement (G : X100).

□ **Réaction de catalase**

Dans le test de catalase on a révélé l'absence de dégagement de gaz (O₂) ce qui nous confirme que ces isolats lactiques étaient catalase négatif. Les résultats pour ce test sont montrés dans la figure 13.

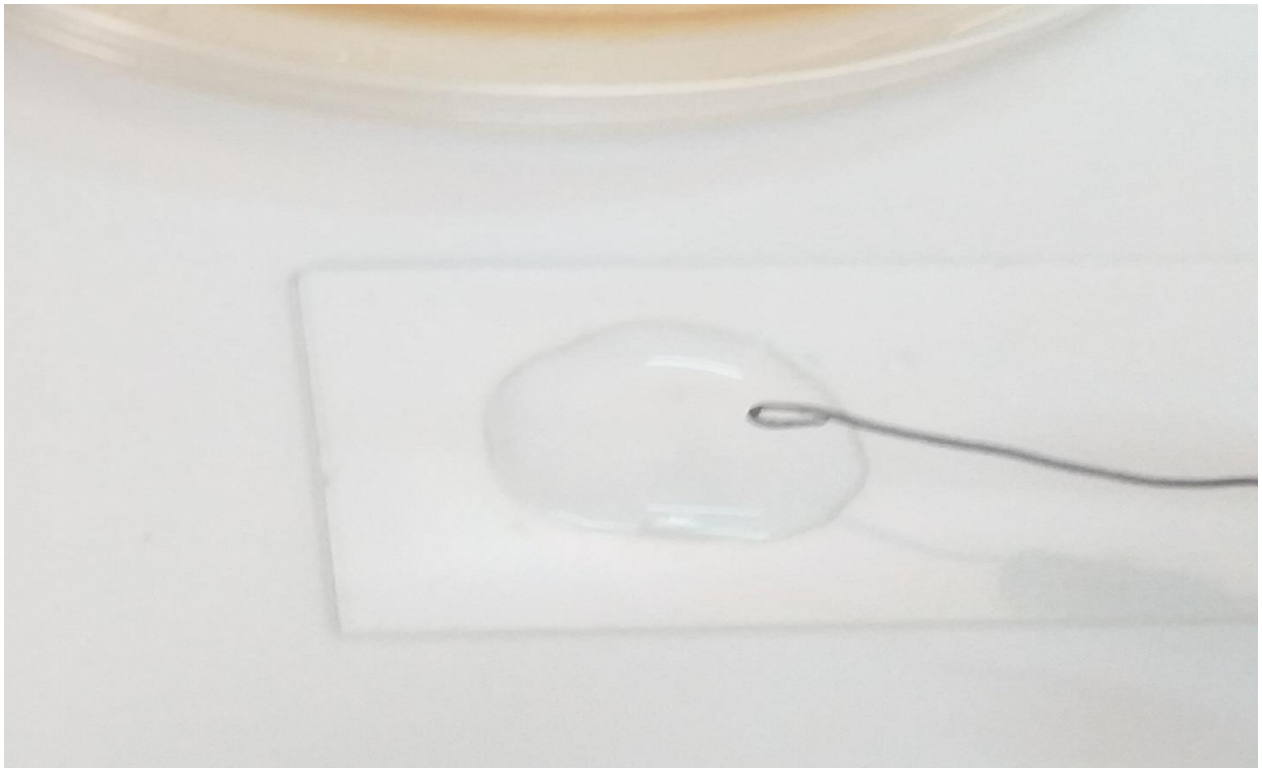


Figure N°13: Résultats de test de la catalase pour identifier les bactéries lactiques.

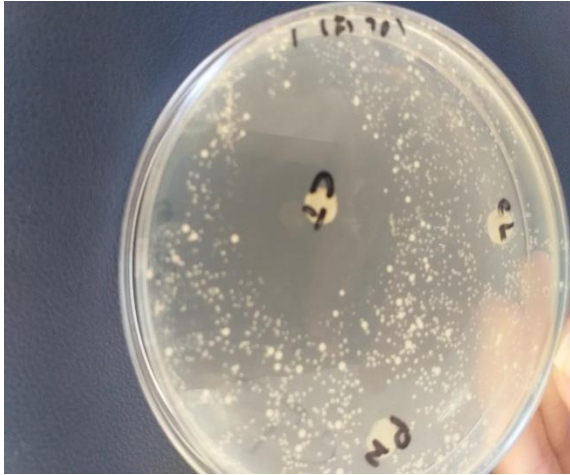
Les résultats biochimiques viennent confirmer l'appartenance de ces souches aux bactéries lactiques. Les différents caractères physiologiques et biochimiques de 06 souches de bactéries lactiques testées sont réunis dans le tableau suivant

Tableau 10: Résultats de l'étude morphologique et biochimique des souches de bactéries lactiques.

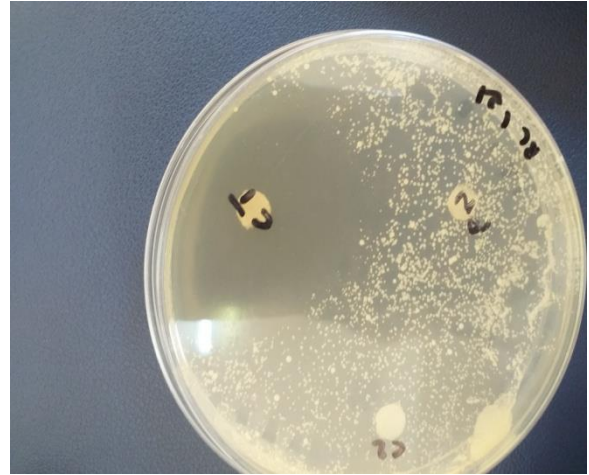
Souches	Gram	forme	Catalase
1	+	Bacille	-
2	+	Bacille	-
3	+	Bacille	-
S1MN	+	Bacille	-
S2MN	+	Bacille	-
T	+	Bacille	-

2. Antibiogramme :

L'antibiogramme a été réalisé pour 06 souches de bactéries lactiques vis-à-vis de 03 antibiotiques de différentes familles, la mesure du diamètre des zones d'inhibition de chaque souche pour chacun des antibiotiques testés permet de caractériser les souches comme étant sensibles ou résistantes. Nous avons considéré que le diamètre de 15 mm est la limite entre résistance et sensibilité : toutes celles qui possèdent un diamètre inférieur à 15 mm sont des souches résistantes et celles qui ont les diamètres supérieurs à 15 mm sont des souches sensibles. Les résultats d'antibiogramme sont montrés dans la figure 14.



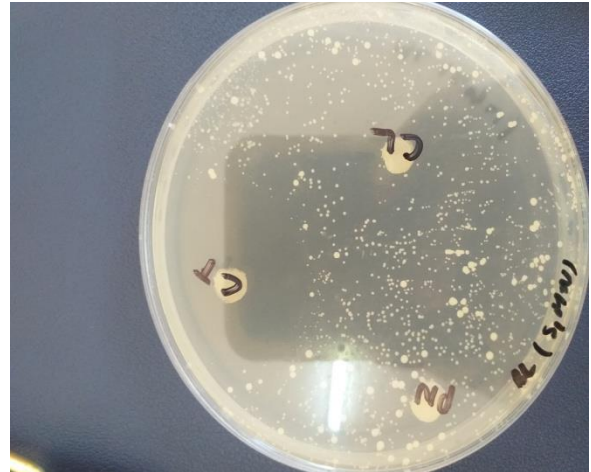
1



2



3



S1MN

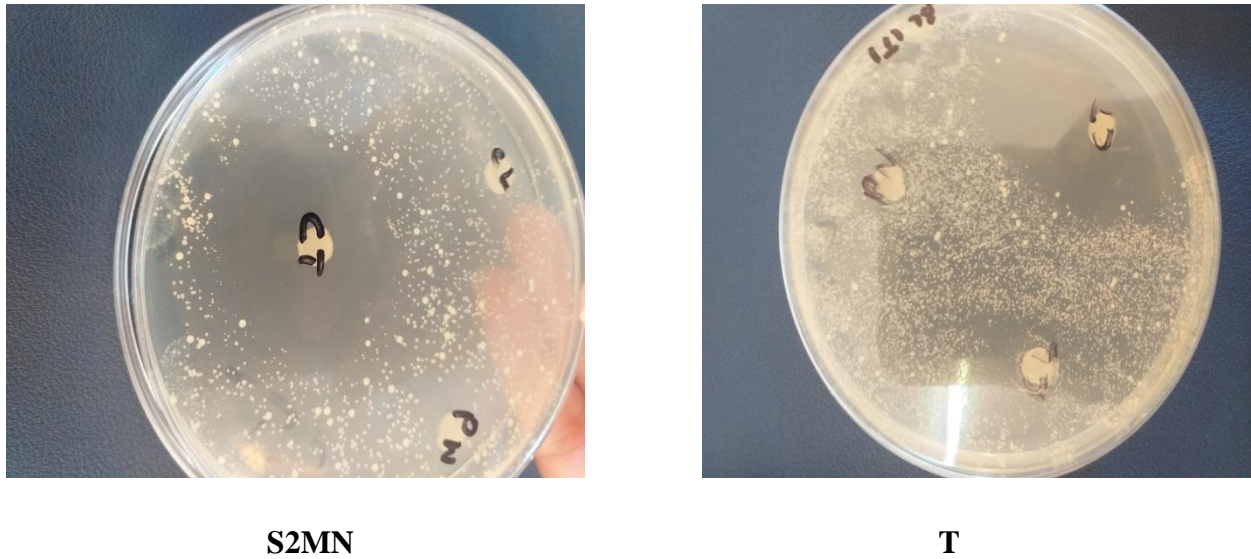


Figure N°14 : résultat d’antibiogramme de différentes souches de BL vis-à-vis de différent antibiotique.

Antibiotique	1	2	3	T	S1MN	S2MN
PN	R	R	R	R	R	R
CT	S	S	S	S	S	S
CL	R	R	R	R	R	R

R : Résistance

S : Sensible

Tableau 11 : antibiogramme des bactéries lactiques

3. Activité antibiorésistance : L’évaluation du pouvoir antagoniste de 06 isolats lactiques a été étudié vis-à-vis trois antibiotiques cibles, indicatrices, à savoir la pénicille (PN), céfotaxime (CT) et la colistine (CL) .L’inhibition se traduit par la formation d’une zone claire autour des disques déposées (spot).

Les résultats des interactions ont montré que toutes les souches isolées possèdent un effet inhibiteur à céfotaxime mais avec un effet plus ou moins déferents **figure 14**. Les diamètres des zones d’inhibition (Zi) apparaissant autour de ces spots ont été mesurés à l’aide d’une règle gradué

3.1. L'Activité antibactérienne vis-à-vis céfotaxime :

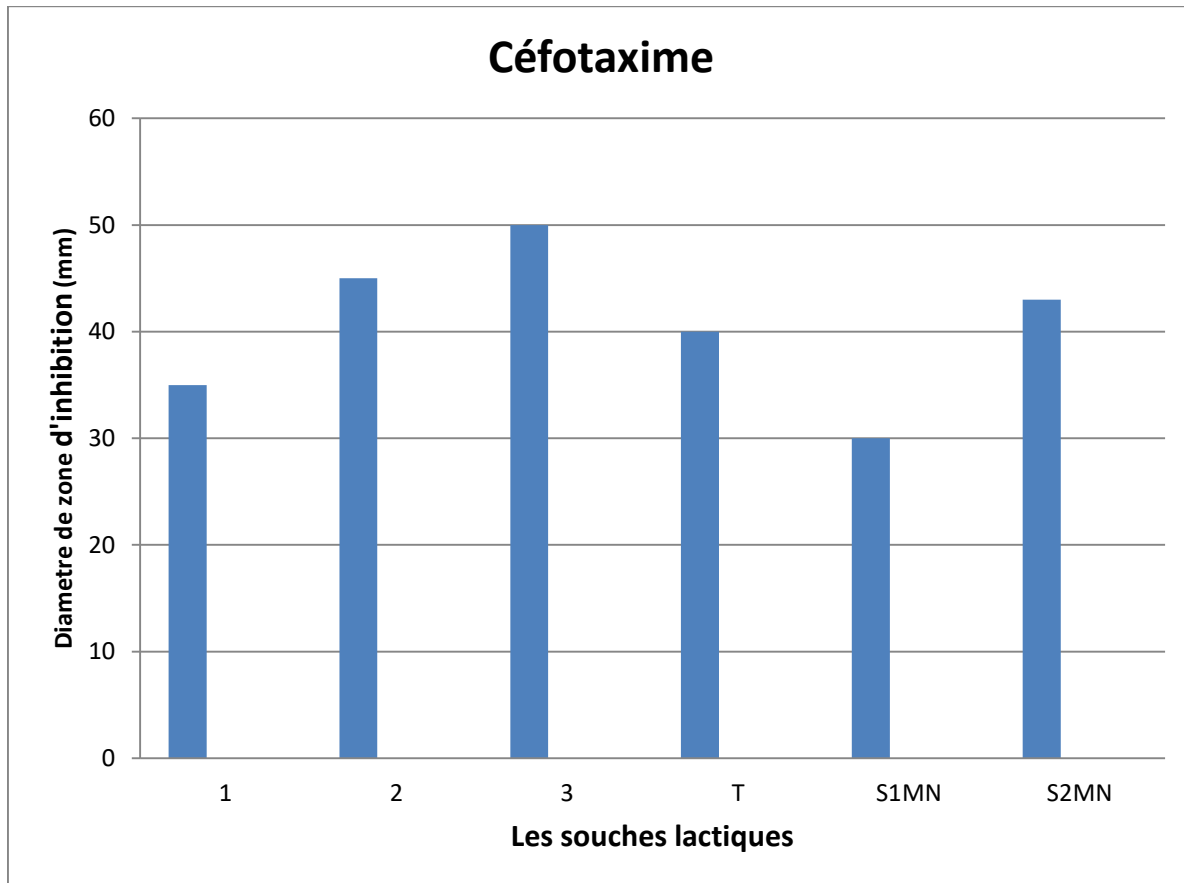


Figure N°15 : Interaction entre les souches lactiques et céfotaxime.

D'après les résultats de test d'antagonisme on observe que toutes les souches lactiques suivante (1 , 2 , 3 , T , S1MN , S2MN) ont une activité résistance important envers la pénicilline (PN) et la colistine (CL) par contre ils ont une grande sensibilité aux le céfotaxime (CT), dont l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition se situé entre 30 et 50 mm .L'analyse de l'histogramme et la comparaison entre les zones d'inhibition produites par les différentes souches lactiques indiquent que antibiotique céfotaxime est inhibé toutes les souches lactiques étudiée. la souche 3 montre l'activité la plus marquante de 50 mm.

En revanche d'après l'étude de la sensibilité par disques mise au point par **Bauer-Kirby-Sherris-Turck**, les disques chargés à 30 µg de céfotaxime doivent produire une zone d'au moins 20 mm pour qu'on considère qu'un microorganisme est sensible à CLAFORAN. Une zone de 15 à 19 mm indique une sensibilité intermédiaire et une zone de 14 mm ou moins indique que les microorganismes sont résistants au céfotaxime.

Parce que certaines souches d'entérobactéries se sont montrées résistantes aux disques du groupe des céphalosporines, seuls les disques de céfotaxime doivent être utilisés pour traité la . (**Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M**).

Conclusion

Les bactéries lactiques ont un intérêt primordial dans l'alimentation, il ya au moins quatre milles ans que l'homme sert de ces bactéries. Elles jouent un rôle important dans l'entretien et l'amélioration de la santé de l'homme. De nombreuses bactéries lactiques à activité antimicrobienne ont été mises en évidence en exploitant les potentialités inhibitrices naturelles par des tests d'interaction entre les antibiotiques et les isolats de bactéries lactiques.

Le présent travail a été consacré à l'identification des souches lactiques isolées de tractus intestinal de sardine et crevette par l'observation de ces souches par culture sur milieu liquide et solide. Ainsi, les isolats ont été soumis à différents tests biochimiques et microbiologiques. Par la suite, testé le pouvoir antagoniste de ces souches lactique envers les antibiotiques suivants : la pénicilline, la colistine et le cefotaxime.

Le teste d'antibiogramme a été réalisée sur six souches lactiques vis-à-vis de trois antibiotiques par la méthode directe (test de spot). Dans cette étude nous avons essayé de déterminer le profil de résistance des bactéries lactiques aux différents antibiotiques.

Des fortes résistances ont été trouvées chez les souches lactiques qui montrent une résistance élevée aux antibiotiques des familles de pénèmes et polymixines, d'autre part les souches montrent aussi une forte sensibilité a cefotaxime, une grande variation des zones d'inhibitrice à été remarqué, le diamètre le plus élevé c'était à 50 mm allant au souche 3.

Il serait très intéressant de poursuivre cette étude pour mieux comprendre les mécanismes d'antibiorésistance des bactéries lactiques.

Annexes

ANNEXE 1 : Coloration de Gram

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre ;
- Prélever un ose d'une colonie et mélanger avec la goutte d'eau physiologique, strier et fixer à la chaleur par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène ;
- Ajouter le Violet de Gentiane pendant 1mn, jeté le colorant ;
- Ajouter le Lugol pendant 1mn ; - Décolorer avec de l'alcool pendant 30 secondes ;
- Ajouter le deuxième colorant, la Fushine et laisser 1 mn puis laver à l'eau ;
- Sécher la lame et mettre une goutte d'huile à immersion puis passer à l'observation microscopique au grossissement X100.

Références bibliographiques

A

Avorn et al. (2001)- Organisation mondiale de la santé (OMS). Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups: alliance for the prudent use of antibiotics, 2001.

B

Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J Clin Pathol 1966; 45: 493. Standardized Disc Susceptibility Test, Federal Register, 39:198182-84. Approved Standard: ASM-2, Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Tests, July 1975.

BENABBOU, A. (2012). Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens Oran. Magister : 121

Bourgeois et Larpent, 1996 - C.MMicrobiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tome 2, pp. 523.

Brown, 1919 - The use of blood agar for the study of streptococci, Vol,9, New York: The Rockefeller Institute for Medical Research.

C

Cenatiempo et al. 1996 ; Zarour et al. 2013 Bactériocines de bactéries lactiques : données récentes sur leur structure, leur mode d'action et leurs déterminants génétiques. Le Lait, INRA Editions, 76, pp.169-177

Chengappa et al.,1990 ; Eberlin et al., 1994 ; Jorgensen et al., 1999- Antimicrobial agents and susceptibility testing, in Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology, Academic Press. p. 479- 492.

Chopra, 1998- Research and development of antibacterial agents. Current opinion in Microbiology, 1, 495-501.

Chengappa et al.,1990 ; Eberlin et al., 1994 ; Jorgensen et al., 1999- Antimicrobial agents and susceptibility testing, in Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology, Academic Press. p. 479- 492.

D

Danielsen et al., 2002 ; Gevers et al., 2003 ; Rizzotti et al., 2009- Characterization of the tetracycline resistance plasmid pMD5057 from *Lactobacillus plantarum* 5057 reveals a composite structure. *Plasmid*. 48,98-103.

Dellaglio et al., 1994; Matamoros, 2008 . caractéristiques générales des bactéries lactiques .In bactéries lactiques .Ed .H Roissant et F M .Luquet . Paris : Lavoisier :pp25-116.

Devriese et al ,1993- The genus *Enterococcus* .In *The Genera of lactic Acid Bacteria* , Edited by wood B .j.B et Holzapfel W.H. London :Blackie academic et Professional .pp .327-367 .

De Roissart, 1986-Bactéries lactiques dans le lait et produits laitiers .Ed.Technique et documentation .Lavoisier.Paris :455 p.

Drider et Prevost, 2009.Bactéries lactiques physiologie ,Métabolisme, Génomique et application industrielle .Ed, Economisa 49 rue Harica 75015 Paris :pp 381-427.

Drouault, S., et Corthier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary Research*, 32(2), 101-117.

E

Euzeby ,2011- Liste of Bacteriol Names With standing nomenclatura Folder available on the internet .*Int.Syst.Bacteriol* .47 :590-592.

EFSA, 2008- Technical guidance prepared by the Panel on Additives and Products or Substances in Animal Feed (FEEDAP) on the update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human and veterinary importance. *The EFSA Journal*. 732, 1-15.

F

Flandrois et al, 1997- Bactériologie médicale. Presses Universitaire de Lyon. ISBN 2 7297 0567 8.

G

GERALD BOUREL, S. H., Krantar K, Oraby M, Charles Diviès., Garmyn, D. (2001). Métabolisme sucre-citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*. Physiologie, métabolisme, 75-82.

Gomez et Malcata, 1999 ; Leahy et al, 2005 - "Bifidobacterium sp and *Lactobacillus acidophilus*: biological, technological, biochemical and therapeutical properties relevant for use as probiotics" Trends in Food Science & Technology 10: 139-157.

Gogny et al, 2001; Morin et al, 2005)- Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, Editions le point vétérinaire. p 165-168.

H

Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008- Starter Cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 151-205.

Holzappel, 2003 - Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In: M. Dworkin (Ed.) The Prokaryotes, 3rd ed. (electronic version). SpringerVerlag. New York. NY.

(Hermann, 2005)- Transmission de l'antibiorésistance des animaux et de la production animale vers l'homme. Comité Scientifique de l'AFSCA. Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire

K

Kesteman et al, 2009- Influence des facteurs associés à une antibiothérapie de type métaglycémique sur les relations pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (PK/PD) des antibiotiques. Thèse Doc. Univ. Toulouse III. Biologie-Santé-Biotechnologies. France.

Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al, 1994 - Lactobacilli, their enzymes and role. In: ripening and spoilage of cheese. Rev. Dairy sci. 73 :158-167.

Klein et al, 1998- Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. Int.J. Food Microbiol. 41:103-125.

König et Fröhlich, 2009 - Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg: pp18-20.

L

Laurent et al., 1998.Manuel de bactériologie alimentaire ,polytechnica .Paris :308 p.

Lettat, 2011. Efficacité et mode d'action des bactéries propioniques et/ou lactiques pour prévenir l'acidose latente chez le ruminant, Blaise pascal. Doctorat: 224.

Leveu et Bouix, 1993; Hassan et Frank, 2001; Hadaf, 2012-la flore lactique in technique d'analyse et de contrôle des les industriesagroalimentaire.pp152-186.

Luquet, 1986 - Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre, T3., qualité, énergie et tables décomposition). Ed .Technique et Documentation. Paris : pp 343- 442.M

M

Mevius et al, 1999; Oxoby, 2002- Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, Editions Le point veterinaire. p 1-57.

N

Novel, 1993-les bactéries lactiques in Microbiologie industrielle les microorganismes d'interet industrielle .Ed.LE VEAU , G .V ;BOUIX,M. Tevhniques et documentation lavoisin .Paris PP.171-215.

O

Ogawara,1981- Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics. Microbial. Rev. 45 (4), 591-619.

Ojha et al., 2008- Examination of animal and zoonotic pathogens using microarrays. Vet Res. 39, 4.

Orla-Jensen 1919,The lactic bacteria Hoslesdsoncopen: 74: pp131-142.

P

Perreten et al., 1997, Salyers et al., 2004 ; Wang et al., 2006 ; Maria et al ., 2010- Antibiotic resistance spread in food. Nature. 389, 801-802.

Poulain, 1994- Evaluation de la préparation commerciale des ferments lactiques inlesbacteries lactiques T1. Aspects fondamentaux et technologiques. Ed. Loriga. Lavoisier: 604 P.

R

Raynaud, 2006 - Regulation métabolique et transcriptionnelle de l'auto acidification chez Lactococcuslactis. Thèse de doctorat. L'institut national des sciences appliquées de Toulouse : 21p.

S

Sallofe, 1994 - Lactis acid bacteries. Dannone News latter n°5 July.

Schleifer et al 1985- Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria .FEMS Microbiol.Letters .46 :201-203.

Stiles et holzapfel, 1997 - Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food Microbiol. 36 : 1-29.

T

Tamime,2002 - Microbiology of starter cultures. In :dairy microbiology handbook (robinson r.k). 3e ed ., john wiley and sons , inc ., new york. 261-366.

Teuber et aL, 1999;. Salyers et al., 2004 ;. Maria et al ., 2010- Veterinary use and antibiotic resistance. Current Opinion in Microbiology. 4 (5), 493-499.

Teuber, 2001; Wegener, 2003 ; Commission Européenne, 2006- Antibiotics in animal feed and their role in resistance development Current Opinion in Microbiology. 6 (5), 439-445.

(Teuber et Perreten, 2000)- Role ofmilk andmeat products as vehicles for antibiotic-resistant bacteria. Acta Veterinaria Scandinavica Supplementum. 93, 111-117.

Tuohy et al., 2009- Studying the human gut microbiota in the trans-omics era—focus on metagenomics and metabonomics. *Current Pharmaceutical Design*.15, 1415-1427 .

V

Vicente et al., 1988; Facinelli et al., 1993; Perreten et al., 1997- Conjugative acquisition and expression of antibiotic resistance determinants in *Listeria spp* *Antimicrob Chemoth*, 21, 309-318.

W

Witte et al., 1997 ;Mathur et Singh, 2005; Ammor et al., 2007- Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in humans. In D.J. Chadwick, &J. Goode (Eds.), *Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread*, Ciba Foundation Symposium. 207, 61-75.

Z

ZAROOUR, K. Z. B., Hadadji, M., Moussa-boudjemaa, B., Henni, J., Kihal, M. (2013). Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle. *Nature & Technologie*, 39 à 47.

Zeba,2005- Overview of 13-lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*, 4 (13),1559-1562.

Zhang et Cai, 2014 - Characterization of an anti- *Listeria* bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LB-B1 isolated from koumiss, a traditionally fermented dairy product from China. *Food Control* , 22:1027-1031.

Résumé

Nous avons établi le profil de résistance de 6 souches de bactéries lactiques vis-à-vis de 3 antibiotiques de différentes familles .

Notre étude a été consacrée dans un premier temps à l'identification des genres des bactéries lactiques utilisé en se basant sur certaines caractéristiques morphologiques et biochimiques. Les résultats d'identification permettent de classer ces souches lactiques à Gram positif et catalase négatif qui portent la forme des bacilles .

Les résultats de test d'antibiogramme montrent que toutes les souches lactiques ont un effet inhibitrice à un seul antibiotique (cefotaxime) avec des diamètres de zones d'inhibition très importants allant jusqu'à 50 mm.

Mots clé : bactéries lactiques , antibiogramme ,résistance , inhibition .

ملخص

لقد أنشأنا ملف المقاومة لـ 6 سلالات من بكتيريا حمض اللاكتيك ضد 3 مضادات حيوية من عائلات مختلفة. كرسنا دراستنا في البداية لتحديد أجناس بكتيريا حمض اللاكتيك المستخدمة بناءً على بعض الخصائص المورفولوجية والكيميائية الحيوية. نتائج التحديد تجعل من الممكن تصنيف هذه السلالات اللبنية موجبة الجرام وسلبية الكاتالاز والتي تحمل شكل العصيات.

تظهر نتائج اختبار المضادات الحيوية أن جميع سلالات اللاكتيك لها تأثير مثبط على مضاد حيوي واحد (سيفوتاكسيم) بأفطار منطقة تثبيط كبيرة جداً تصل إلى 50 مم.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، مضاد حيوي ، مقاومة ، تثبيط.

Abstract

We have established the resistance profile of 6 strains of lactic acid bacteria against 3 antibiotics from different families.

Our study was initially devoted to the identification of the genera of lactic acid bacteria used based on certain morphological and biochemical characteristics. The identification results make it possible to classify these Gram-positive and catalase-negative lactic strains which bear the form of bacilli.

Antibiogram test results show that all lactic strains have an inhibitory effect on a single antibiotic (cefotaxime) with very large inhibition zone diameters of up to 50 mm.

Key words: lactic acid bacteria, antibiogram, resistance, inhibition.