



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

**Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi**

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Département De Science De la Nature Et de La Vie**

**Filière : Science Biologique**

N° d'ordre : ..... N° de série :

**MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBSTINATION DU DIPLOME DE MASTER**

**Option : Microbiologie Appliquée**

**SOUS LE THEME**

**Thème**

**La caractérisation phénotypique des souches bactériennes  
(*Staphylocoque, Pseudomonas*) et des levures présentes dans le  
lait de vache cru dans la région de Oum el Bouaghi.**

**Présenté par :**

Bakhouche Hadil

Yahi Asma

Kadi Hadil

**Devant le Jury :**

**Présidente : MCB Mme. Benslama Ouidad**

**Encadreur : Pr Mme. Merradi Laarem**

**Examinatrice : MCB Mme. Khennouchi Nour Chams el Houda**

**Année Universitaire : 2022-2023**



# *Remerciements*

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

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

*Nos remerciements s'adressent à l'équipe de laboratoire pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.*

# *Dédicaces*

*Je remercie tout d'abord Allah, le tout puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail.*

*Je dédie ce travail, expression de mon affection avec tout mes vœux de bonheur.*

*A l'être le plus chère de ma vie: ma mère Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point la remercier comme il se doit. Son affection me couvre, sa bienveillance me guide et sa présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*A mon très chère père.*

*Ils est toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.*

*Que ce travail traduit ma gratitude.*

*A mes sœurs et frères pour leur encouragement et leur bonté qu'ils m'ont accordé, j'exprime mon profond reconnaissance et respect.*

*A mes chers amis pour leur amour ainsi que pour les moments inoubliables qu'on a vécu ensemble durant les années.*

*A tous ceux que j'aime et tous ceux que m'aiment.*

***Hadil BAKHOUCHE***

*Merci (๖`•๖)*

# *Dédicaces*

*Je dédie cet humble travail A Allah le tout puissant à qui je doit tout .*

*Mes très chers parents "khemissa et fateh"*

*Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous, Vos prières, vos encouragements et votre soutien, M'ont toujours été d'un grand secours.*

*Ma chère soeur Ghada*

*A mon cher frère Imad*

*A mes chers amies : Sara , Hadil , Asma , Zineb, Lydia ,Chahinez et Liza*

*Je dédie cet humble travail A Allah le tout puissant à qui je doit tout .*

*Mes très chers parents "khemissa et fateh"*

*Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous, Vos prières, vos encouragements et votre soutien, M'ont toujours été d'un grand secours.*

*Ma chère soeur Ghada*

*A mon cher frère Imad*

*A mes chers amies : Sara , Hadil , Asma , Zineb, Lydia ,Chahinez et Liza*

***Hadil KADI***

*Merci (◉`•`◉)*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents Naziha et Ramdhane*

*Pour leur patience, leur amour ,leur soutien et leurs encouragements*

*À mes frères Fakher el din & Mohamed*

*À mes sœurs Fatma, Salima, Linda et djihane*

*À mes beaux frères Abdelrahman & Lokmane*

*À mes nièces et mes neveux .*

*À mes amis proche Hadyl et Rihem et bien sur mes chers Hadilate mon*

*gain des années universitaires*

*Sans oublier tout les professeurs que ce soit du primaire, du moyen,*

*secondaire ou de l'enseignement supérieur.*

*Asma YAHY*

*Merci (◡̈ • ◡̈)*

*Tables des matières*

*Remerciements*

*Dédicaces*

*Introduction*..... 1

*Première partie : synthèse bibliographique*

*Chapitre I : Généralité sur le lait*

I.1 Définition du lait ..... 4

I-2 Microflore du lait ..... 4

    I-2-1 La flore indigène ou originelle..... 4

    I.2.2. Flore de contamination du lait ..... 5

*Chapitre II : Les Staphylocoques*

II.1. Classification ..... 7

II.2. Habitat..... 7

II.3. Etude bactériologique ..... 7

    II.3.1. Caractères morphologiques ..... 7

    II.3.2. Caractères culturaux ..... 8

    II.3.3. Caractères biochimiques..... 8

II.4. Facteurs de virulence ..... 8

    II.4.1.les protéines de surface ..... 8

    II.4.2.les substances élaborées par *Staphylococcus aureus* ..... 8

        II.4.2.2. Les toxines..... 9

II.5. Pouvoir pathogène ..... 9

    II.5.1. Pouvoir pathogène des Staphylocoques blancs..... 9

    II.5.2. Pouvoir pathogène des Staphylocoques dorés ..... 9

        II.5.2.2. Les infections toxiques staphylococciques ..... 10

*Chapitre III : Pseudomonas*

III.1. Morphologie et structure : ..... 12

III.2. Caractères biochimique : ..... 12

    III.2.1. Métabolisme : ..... 12

    III.2.2. Production de pigment : ..... 13

## TABLES DES MATIERES

|  |    |
|--|----|
| III.3. Caractères génétiques : .....                   | 13 |
| III.4. Caractères sérologiques et lysotypiques : ..... | 13 |
| III.5. Pathogénicité et toxicité : .....               | 14 |

### *Chapitre IV : Les levures*

|  |    |
|--|----|
| IV.1. Généralité de levures .....        | 16 |
| IV.2. L’habitat .....                    | 16 |
| IV.3. Morphologie .....                  | 16 |
| IV.4. Reproduction de levure .....       | 17 |
| IV.4.1. Reproduction asexuée .....       | 17 |
| IV.4.2. Reproduction sexuée .....        | 18 |
| IV.5. Condition de croissance .....      | 18 |
| IV.5.1. Besoins nutritionnels .....      | 18 |
| IV.5.1.1. Azote .....                    | 18 |
| IV.5.1.2. Carbone .....                  | 19 |
| IV.5.1.3. Soufre .....                   | 19 |
| IV.5.1.4. Les vitamines .....            | 19 |
| IV.5.2. Condition physico-chimique ..... | 19 |
| IV.5.2.1. Température .....              | 19 |
| IV.5.2.2. Oxygène .....                  | 19 |
| IV.5.2.3. Pression .....                 | 20 |
| IV.5.2.4. Ph .....                       | 20 |
| IV.6. Métabolisme .....                  | 20 |
| IV.6.1. Métabolisme oxydatif .....       | 20 |
| IV.6.2. Métabolisme inoxydatif .....     | 20 |
| IV.7. classification de levure .....     | 21 |

### **Chapitre V: L’antibiorésistance**

|   |    |
|---|----|
| V.1. Définition des antibiotiques .....               | 24 |
| V.2. Résistance aux antibiotiques .....               | 24 |
| V.3. Différents types de résistance bactérienne ..... | 24 |
| V.3.1. Résistance naturelle .....                     | 24 |

## TABLES DES MATIERES

|   |           |
|---|-----------|
| V.3.2. Résistance acquise .....                   | 24        |
| V.4. Les mécanismes de résistance .....           | <b>24</b> |
| V.4.1. La modification des protéines cibles ..... | 25        |
| V.4.2. L'inactivation enzymatique .....           | 25        |
| V.4.3. L'efflux actif de l'antibiotique .....     | 25        |
| V.4.4. L'imperméabilité membranaire .....         | 25        |

### **Deuxième partie**

#### **Matériel et Méthodes**

|   |           |
|---|-----------|
| 1. Objectif : .....   | <b>27</b> |
| 2. Lieu et durée du stage : .....   | <b>27</b> |
| 3. Echantillonnage : .....  | <b>27</b> |
| 3.1. Origine de prélèvement .....   | 27        |
| 3.2. Technique de prélèvement .....   | <b>28</b> |
| 4. Isolement et purification .....  | <b>28</b> |
| 5. conservation des souches .....   | <b>29</b> |
| 6. Tests d'identification .....   | <b>29</b> |
| 6.1. Examen macroscopique : .....   | 29        |
| 6.2. Examen microscopique : .....   | 29        |
| 6.2.2. Coloration de gram pour des Staphylocoques et <i>Pseudomonas</i> ..... | 29        |
| 6.2.3. Examen a l'état frais des Levures .....                                | 30        |
| 6.3. Test catalase : .....  | 30        |
| 6.4. Galerie biochimique : .....  | 31        |
| 6.4.1. Test coagulase de Staphylocoques .....                                 | 31        |
| 6.4.2. Galerie biochimique classique de <i>Pseudomonas</i> .....              | 31        |
| 6.5. L'antibiogramme : .....  | 35        |
| 6.5.1. Préparation de l'inoculum .....  | 35        |
| 6.5.2. L'ensemencement .....  | 35        |

### **Troisième partie**

#### **Résultat et discussion**

|                                |           |
|--------------------------------|-----------|
| 1. Fréquence d'isolement ..... | <b>39</b> |
| 2. Examen macroscopique .....  | <b>39</b> |

## TABLES DES MATIERES

|  |           |
|--|-----------|
| 2.1. Les staphylocoques sur milieu Chapman .....                               | 39        |
| 2.2. Les bactéries de genre <i>Pseudomonas</i> sur milieu Hektoen.....         | 39        |
| 2.2.1. Mise en évidence des pigments produire par <i>Pseudomonas ssp</i> ..... | 40        |
| 2.3. L’aspect macroscopique des levures sur milieu Sabouraud : .....           | 40        |
| <b>3. Examen microscopique : .....</b>   | <b>41</b> |
| 3.1. Coloration de Gram .....  | 41        |
| 3.3. Coloration de bleu de méthylène .....                                     | 43        |
| <b>4. Identification biochimique des Staphylocoques :.....</b>                 | <b>43</b> |
| 4.1. Test de la catalase.....  | 43        |
| 4.2. Test coagulase .....  | 43        |
| <b>5. Identification biochimique de genre de <i>Pseudomonas</i>:.....</b>      | <b>44</b> |
| 6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées : .....       | 44        |
| 6.1. La résistance de <i>Pseudomonas ssp</i> aux antibiotiques : .....         | 45        |
| 6.2. La résistance de Staphylocoques aux antibiotiques : .....                 | 46        |
| 6.2.1. La résistance des Staphylocoques dorés : .....                          | 46        |
| 6.2.2. La résistance des Staphylocoques blancs .....                           | 48        |
| <i>Conclusion</i> .....  | <b>51</b> |
| <i>Bibliographie</i> .....   | <b>53</b> |

### **Bibliographie**

#### **Annexes**

#### **Résumé**

## LISTE DES FIGURES

### *Liste des figures*

|  |    |
|--|----|
| Figure 1 : <i>S. aureus</i> observé sous microscope optique après coloration de Gram (Mouton, 2018) .<br>.....   | 7  |
| Figure 2 : Deux lésions nodulaires extrêmement enflées, ulcérées au centre et suppurées (Marazza, Borradori, & Harbarth, 2007). .....                      | 10 |
| Figure 3 : Coloration de gram d'une souche mucoïde de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ( <a href="https://microptique.com">https://microptique.com</a> )..... | 12 |
| Figure 4 : L'observation de levures au microscope ( <a href="https://microptique.com">https://microptique.com</a> ).....                                   | 17 |
| Figure 5 : le processus de bourgeonnement (levures).....   | 18 |
| Figure 6 : Test catalase (Tankeshwar, 2022). .....   | 30 |
| Figure 7 : milieu Citrate de Simmons positif .....   | 32 |
| Figure 8 : Milieu Mannitol-mobilité .....  | 33 |
| Figure 9 :Test de (Vosges-Proskauer) négatif.....  | 34 |
| Figure 10 : Test Rouge de Méthyle négatif.....   | 35 |
| Figure 11 : Préparation d'une suspension bactérienne .....   | 36 |
| Figure 12 : Comparaison avec Mac Farland .....   | 36 |
| Figure 13 : L'ensemencement par écouvillonnage .....   | 36 |
| Figure 14 : Application des disques d'antibiotique .....   | 36 |
| Figure 15 : L'aspect macroscopique de la souche E4 <i>S.doré</i> .....   | 39 |
| Figure 16 : L'aspect macroscopique de la souche <i>Pseudomonas</i> sur milieu Hektoen (E7 AM)..  | 40 |
| Figure 17 : Les pigments produire par <i>Pseudomonas ssp</i> sur milieu King A et King B (E3 OEB)<br>.....   | 40 |
| Figure 18 : L'aspect macroscopique des levures sur milieu Sabouraud .....  | 41 |
| Figure 19 : Coloration de GRAM de la souche Staphylocoque E16 AF ( <i>S.doré</i> ) ; (objectif x100).<br>.....   | 41 |
| Figure 20 : Observation à l'état fris de la souche de levure E9 AM ; (objectif x100).....  | 42 |
| Figure 21 : Observation après coloration de la souche de levure E9 AM ; (objectif x100).....   | 43 |
| Figure 22 : Test de catalase positif.....  | 43 |
| Figure 23 : test de coagulase (test-/test+).....   | 44 |
| Figure 24 : Résultats de l'antibiogramme des souches(E09.AM) et (E11.AB) .....   | 45 |
| Figure 25 :Pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches de genre <i>Pseudomonas</i> . ....  | 45 |
| Figure 26 : Pourcentage de résistance des Staphylocoques dorés .....   | 46 |
| Figure 27 : Pourcentage de résistance des Staphylocoques blancs .....  | 48 |
| Figure 28 : Répartition des pourcentages de multi-résistance des <i>Pseudomonas ssp</i> .....  | 49 |

## LISTE DES FIGURES

|   |    |
|---|----|
| Figure 29 : Répartition des pourcentages de multi-résistance des Staphylocoques dorés ..... | 49 |
| Figure 30 : Répartition des pourcentages de multi-résistance des Staphylocoques Blanc ..... | 50 |

*Liste des tableaux*

Tableau 1 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)..... 5

Tableau 2 : Classification des levures (Kregar-van rij, 1984)..... 21

Tableau 3 : L'origine de prélèvements des échantillon utilisés..... 27

Tableau 4 : Les antibiotiques testés sur les souches de *Pseudomonas*. ..... 37

Tableau 5 : Les antibiotiques testés sur les souches de *staphylocoque* ..... 37

Tableau 6 : Résultats de galerie biochimique de genre *Pseudomonas* ..... 44

Tableau 7 : Profil de résistance des *Pseudomonas ssp* ..... 63

Tableau 8 : Profil de résistance des staphylocoques blancs. .... 63

Tableau 9 : Profil de résistance des Staphylocoques dorés. .... 63

# *Introduction*

## **Introduction**

Le lait est un aliment important pour l'homme depuis la domestication de bétail et l'adoption d'une agriculture pastorale, est un produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères destinés à nourrir les jeunes animaux nouveau-nés. Au-delà de cette fonction, le lait peut être transformé en divers aliments (Vuilleumard, 2018).

Le lait est l'aliment de base de nombreux mammifères, une source de  $\text{Ca}^{+2}$ , de riboflavine P, de vitamine B12 et La plupart des protéines, des sucres, de bons lipides, sa richesse en tout ces nutriments le rendent nécessaire à la nutrition humain (Kaan, 2007).

L'Algérie importe ce produit alimentaire et se classe comme deuxième importateur au monde après la Chine, et le plus grand consommateur de lait au Maghreb, avec 120 litres par an et par habitant (Kacimi El Hassani, 2013).

Le lait est influencé par de nombreux des facteurs telle que la température de stockage qui peut réduire la valeur nutritionnelle, et ainsi influencer la qualité microbiologique et physicochimique du produit (L-Hadi Djamel, 2015).

L'objectif de ce travail est la caractérisation phénotypique des souches bactériennes (staphylocoque, Pseudomonas) et de levures présentes dans le lait cru de vache dans la région de Oum el Bouaghi.

*Première partie : synthèse  
bibliographique*

*Chapitre I : Généralité sur le  
lait*

## **I.1 Définition du lait**

Le lait est le liquide blanc naturellement sucré des mammifères femelles avec un pH légèrement acide (6,6 à 6,8) sécrété par les glandes mammaires des mammifères femelles après la naissance (Sandra, 2001)

Lors du Congrès international contre la fraude à Genève en 1908, le lait était défini comme le produit complet de la traite entière et ininterrompue d'une vache laitière saine, bien nourrie et non surmenée.

## **I-2 Microflore du lait**

La microflore du lait est une microflore très hétérogène qui peut comprendre des bactéries, des virus et des mycètes. On peut diviser cette microflore en deux grands groupes : la microflore non pathogène, responsable de l'altération des caractéristiques organoleptiques et sensorielles du lait, et la microflore pathogène, dont l'ingestion peut causer différentes pathologies chez l'humain ; la gravité et l'évolution de ces pathologies dépendent de l'agent pathogène en cause et de l'état de santé de la personne. La microflore du lait peut provenir de plusieurs origines dont l'animal lui-même, qui représente une source importante de contamination, des manipulateurs et de l'environnement. La contamination du lait peut être d'origine endogène à la suite d'une infection et du passage par voie sanguine des microorganismes dans la glande mammaire, ou d'origine exogène à la suite d'une défaillance sur le plan des conditions (vignol, 2002).

### **I-2-1 La flore indigène ou originelle**

Les flores du lait sont composées de microorganismes, Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles ,Ces microorganismes, Elle est plus ou moins abondante, étroitement associée à l'alimentation et n'affecte pas significativement la qualité du lait sur sa fabrication (Guiraud, 2004)

Tableau 1 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

| Microorganisme                            | pourcentage |
|---|-------------|
| <i>Microoccus sp</i>                      | 30-90       |
| <i>Lactobacillus sp</i>                   | 10- 30      |
| <i>Streptococcus sp ou Lactococcus sp</i> | <10         |
| Gram négatif                              | <10         |

### I.2.2. Flore de contamination du lait

La qualité bactériologique du lait a fait l'objet de nombreuses études au cours des 30 dernières années, La flore dérivée du pis d'une part et la flore dérivée du matériel d'autre part ont été caractérisées au niveau de l'espèce. (Jack, 1993)

Le matériel de laiterie doit être désinfecté quotidiennement par des produits adaptés (soude, ammonium) et le personnel doit porter des vêtements de travail réservés à cet usage.

Compte tenu de ce qui précède les risques de contamination du lait prévalent depuis la collecte jusqu'à la transformation.

À la ferme, le risque est d'abord hygiénique ;

- Contamination fécale (*E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium*) lors de la traite (mains du trayeur, queue de l'animal)
- Contamination par les germes de l'environnement (*Listeria*, *Pseudomonas*, entérobactéries, moisissures) quand le lait est laissé à l'air libre au cours de la traite ;

Multiplication des bactéries dans le matériel de traite (*E. coli*) si le nettoyage du matériel est défectueux.

- Contamination par la flore pathogène du lait (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, *Listeria sp*, *Brucella sp*)

Mais le risque peut aussi être commercial : Pendant le transport, des délais d'acheminement trop longs et une température trop élevée favorisent la multiplication des bactéries (Carid, 2006).

## ***Chapitre II : Les Staphylocoques***

## **II.1. Classification**

Les Staphylocoques appartient au :

- Règne : Bacteria
- Phylum : Firmicutes
- Classe : Bacilli
- Ordre : Bacilliales
- Famille : Staphylococcaceae (Robert, 2013).

## **II.2. Habitat**

Les staphylocoques forment une partie importante de la flore humaine normale, mais comprennent également des espèces pathogènes (Hart Tony, 1997). Ils existent à la surface du corps ou dans les muqueuses des humains ou des animaux à l'état symbiotique. Certains groupes existent dans le sol, l'air et l'eau. Ils peuvent fréquemment contaminer les préparations et créer des odeurs en raison de leur présence naturelle à la surface de la peau. (Verdier Isabelle, 2015).

## **II.3. Etude bactériologique**

### **II.3.1. Caractères morphologiques**

Les staphylocoques sont des coques d'un diamètre de 0,1 à 1  $\mu\text{m}$ . Ils apparaissent solitaires, diplocoques ou en grappes, acquérant ainsi l'aspect caractéristique d'une grappe de raisin. Ce sont des bactéries Gram-positives. À de très rares exceptions près, ils n'ont pas de capsules, ils ne forment pas de spores (Névine, 2022).



**Figure 1 : *S. aureus* observé sous microscope optique après coloration de Gram (Mouton, 2018) .**

### II.3.2. Caractères cultureux

Incubés à 35°C pendant 24 à 48 heures, les staphylocoques se développent rapidement sur différents milieux (CHAPMAN, BAIRD PARKER) avec des colonies variant en diamètre de 1 à 3 mm, colorées (crème/gris/blanc cassé, légèrement jaune pâle de jaune à orange), lisse, bombée. (Midireh.l).

### II.3.3. Caractères biochimiques

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des Cocci anaérobies aérobies facultatifs. (Université Pierre et Marie Curie Bactériologie, 2003). La présence de coagulase est utilisée pour distinguer *S. aureus* (coagulase positive) des autres staphylocoques. (Hart Tony, 1997).

### II.4. Facteurs de virulence

*S. aureus* possède de nombreux facteurs de virulence : les protéines de surface, les cytotoxines, les enzymes (Anne Tristan, 2019).

#### II.4.1.les protéines de surface

Parmi les facteurs de virulence on a les protéines de surface (adhésines) qui permettent la colonisation de l'hôte, conduisent au développement et à la propagation de l'infection (Anne Tristan, 2019).

#### II.4.2.les substances élaborées par *Staphylococcus aureus*

##### II.4.2.1. Les enzymes

Il existe plusieurs enzymes non toxiques dont :

a) **La coagulase libre** : Exonucléase, thermostable, dont le domaine N-terminal se lie à la prothrombine pour former la thrombine staphylococcique, chargée de polymériser le fibrinogène en fibrine, coagulant ainsi le plasma humain ou de lapin (Gautier.M.Y., 2010).

b) **La staphylokinase ou fibrinolysine** : Caractérisation des souches pathogènes humaines. En activant le plasminogène en plasmine, il disloque le caillot dans la veine, libérant des micro embolus septiques (Freney, Renaud, Hansen, & al, 2000).

c) **Fatty Acid modifying enzyme** thermolabile, antigénique, modifie les lipides antimicrobiens de l'hôte, et est exprimé par 80% des souches de *Staphylococcus aureus* (Aly & Levit, 1987).

**d) Catalase :** Inhibe l'activité bactéricide dans les globules blancs en empêchant les globules blancs de former des radicaux libres oxydatifs qui sont toxiques pour les bactéries (EL Kouri, Pottier, & al, 1998).

#### II.4.2.2. Les toxines

Les toxines produites par *Staphylococcus aureus* sont :

- Entérotoxine émétique, l'ingestion peut provoquer une intoxication alimentaire.
- Toxine d'épidermolyse (ou exfoliants A et B) provoquant une dermatose bulleuse sélective du nouveau-né.
- Toxines qui causent le syndrome de choc toxique. Le syndrome est caractérisé par une hypotension artérielle ( $\leq \sim 90$  mm Hg), une éruption érythémateuse, une forte fièvre ( $\geq \sim 39,8$  OC) et une atteinte des muqueuses et de divers organes internes (Névine, 2022).

#### II.5. Pouvoir pathogène

Les infections à staphylocoques sont l'une des infections bactériennes les plus courantes et peuvent aller de la plus banale à la mortelle (Ananthanarayan . R, 2017). Il est responsable de nombreuses infections hospitalières et communautaires (Astagneau. P, 2011).

##### II.5.1. Pouvoir pathogène des Staphylocoques blancs

*Staphylococcus aureus* peut entraîner la propagation de diverses maladies, mais seulement si l'organisme est faible : on parle aussi d'infections opportunistes (Kierzek, 2022).

##### II.5.2. Pouvoir pathogène des Staphylocoques dorés

*Staphylococcus aureus* est le plus virulent et provoque le plus souvent des infections cutanées et peut également provoquer une pneumonie, une endocardite et une ostéomyélite. Il provoque souvent la formation d'abcès. Les toxines produites par certaines souches peuvent provoquer une gastro-entérite, un syndrome d'épidermolyse et un syndrome de choc toxique (Larry M. Bush, 2021).

###### II.5.2.1. Les infections suppuratives

Une distinction est faite entre les infections suppurées superficielles et profondes qui impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion et la destruction subséquente des tissus de l'hôte, l'inflammation locale et systémique. *S. aureus* provoque principalement des infections

localisées au niveau de la peau et des muqueuses, telles que la folliculite, les furoncles, la paronychie, l'anthrax, la cellulite, la sinusite et l'otite. (Alonso, 2009).



**Figure 2 : Deux lésions nodulaires extrêmement enflées, ulcérées au centre et suppurées (Marazza, Borradori, & Harbarth, 2007).**

### II.5.2.2. Les infections toxiques staphylococciques

La maladie staphylococcique est une infection diffuse causée par des staphylocoques. Elle peut être légère et prolongée, ou elle peut être aiguë. c'est une septicémie staphylococcique (Pebret, 2003).

#### ➤ Le syndrome de choc toxique

Le syndrome de choc toxique de *Staphylococcus* est un syndrome infectieux de nature aiguë et systémique (Hassan & al, 2017). Elle est causée par l'activité super-antigénique des toxines staphylococciques. Elle est potentiellement mortelle et est causée par la propagation de la toxine TSST-1 (Toxic Shock Syndrome Toxin-1) dans les organismes et/ou les entérotoxines. (Parsonnet, et al., 2005).

#### ➤ Toxi-infection alimentaire

Les *Staphylococcus aureus* représentent la principale origine des intoxications alimentaires dans le monde en raison de sa présence ubiquitaire, de sa persistance et de sa capacité à croître dans des conditions variées. La toxi-infection alimentaire causée par cette bactérie est l'une des maladies liées à l'alimentation les plus fréquentes dans le monde. Elle résulte de l'ingestion de la toxine produite dans la nourriture par certaines souches de cette bactérie. (Roesel & Grace, 2014).

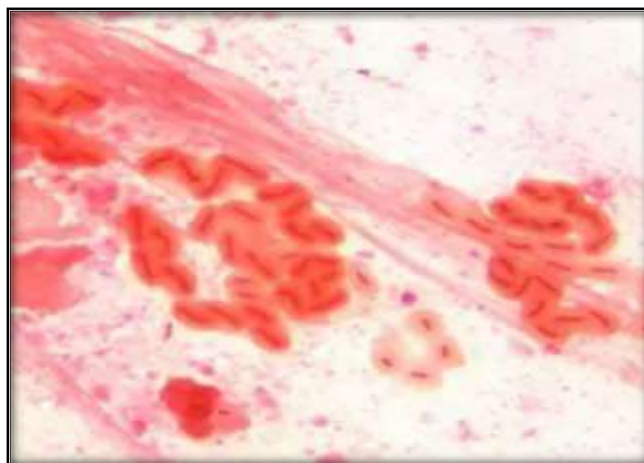
# *Chapitre III : Pseudomonas*

### III.1. Morphologie et structure :

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, mobiles par une ciliature polaire, rarement immobiles, non sporulés. Ces bactéries chimio-organotrophes ont un métabolisme strictement respiratoire avec comme accepteur terminal d'électrons l'oxygène en aérobiose, et pour certaines espèces le nitrate en anaérobiose avec synthèse d'une nitrate-réductase (respiration des nitrates. Elles sont oxydase (+).

Les *Pseudomonas* sont caractérisés par la pluralité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie.

Ces bactéries sont très répandues dans la nature et caractérisées par leur résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques. (Eyquem & Joseph Alouf, 2000)



**Figure 3 : Coloration de gram d'une souche mucoïde de *Pseudomonas aeruginosa* (Midireh)**

### III.2. Caractères biochimique :

#### III.2.1. Métabolisme :

Les *Pseudomonas* sont faciles à cultiver (besoins nutritionnels très simples), Entre 10°C et 42°C, en milieu normal (Mueller Hinton), milieu sélectif (agar Drigalski, Hektoen, MacConkey ou avec cétrimide) ou révélateur.

Une bonne croissance est généralement obtenue après 24 à 48 heures d'incubation. Pour les cultures chez les patients atteints de mucoviscidose, l'incubation de boîtes de milieu solide à 35 à 37 °C pendant 5 jours est recommandée, car certaines souches infectant de manière chronique se développent très lentement. La plupart des organismes *Pseudomonas aeruginosa*

sont facilement identifiables par la morphologie caractéristique de la colonie plate et étalée avec des bords dentelés et un éclat métallique, qui est souvent associée à l'autolyse de la colonie, mais cela dépend de la composition du milieu et du type d'infection (Aiguë ou chronique)), les colonies peuvent prendre des morphologies différentes (variantes de mucilage, petites colonies "SVG" ou "œuf au plat"). (Midireh)

### III.2.2. Production de pigment :

Six espèces, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas montini*, *Pseudomonas mornii*, *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas veronii*, ont produit un pigment jaune vert ou jaune-brun soluble dans l'eau, connu sous le nom de pyoverdine. En raison de ce pigment, ces six espèces ont été classées comme membres du groupe *Pseudomonas fluorescens*. De plus, *Pseudomonas aeruginosa* produit le pigment bleu-vert pyocyanine, qui se combine avec la pyoverdine pour former une couleur vert vif. Des souches occasionnelles de *Pseudomonas aeruginosa* ne produisaient que de la pyoverdine, il était donc difficile de distinguer ces souches des cinq autres espèces de *Pseudomonas fluorescens*. *Pseudomonas aeruginosa* peut également produire d'autres pigments diffus tels que la pyomélanine (brun foncé) et la pyorubine (rouge). (Midireh)

### III.3. Caractères génétiques :

Le GC% (coefficient de Chargaff, pourcentage de guanine et de cytosine dans l'acide nucléique) de *Pseudomonas syringae* varie de 58% à 61% (Palleroni, 1984). La présence de plasmides de poids moléculaire variable a été mise en évidence chez *P. syringae* comme chez de nombreuses bactéries. Ces plasmides sont zygotiques (Gonzales et al., 1984) et peuvent porter des gènes de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds également transmissibles à d'autres bactéries. Les espèces de *Pseudomonas* possèdent le plus grand nombre de traits de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds détectés par Manceau (1984). (Jl & J, 1993)

### III.4. Caractères sérologiques et lysotypiques :

Les *Pseudomonas* possèdent un certain nombre de structures de surface : molécules qui peuvent être des antigènes et récepteurs pour les bactériophages ; une variabilité est observée à ce niveau. Plusieurs classifications des *Pseudomonas* phytopathogènes fluorescents, basées sur des caractères antigéniques, ont été proposées par Lovrekovich et al (1963), Otta et English (1971), Coléno (1973) et Patushenko et Simonovich (1979). Bien que ces auteurs n'aient travaillé ni avec les mêmes souches, ni avec les mêmes techniques de préparation des antigènes,

leurs résultats sont convergents, soulignant l'existence d'antigènes communs chez certains pathovars ou des différences nettes entre d'autres pathovars. Par la technique d'immunodiffusion, Samson et Saunier (1987) sont parvenues à une conclusion similaire à partir des antigènes portés par le lypopolysaccharide de 12 pathovars de *P. syringae*. L'utilisation des anticorps monoclonaux devrait permettre de mieux différencier les pathovars, bien que Casano et al (1987) aient montré, dans un premier travail, que ces anticorps n'avaient qu'un intérêt partiel pour *P. syringae*. (Jl & J, 1993)

#### III.5. Pathogénicité et toxicité :

*Pseudomonas spp* sont des agents pathogènes opportunistes qui envahissent souvent le tissu de leurs hôtes et causent une infection et une bactériémie chez les hôtes immunodéprimés (p. ex. VIH/sida, fibrose kystique du pancréas, bronchiectasie et maladie pulmonaire obstructive chronique sévère, brûlures, affection maligne ou diabète sucré) (LIU & MERCER), (Feldman). L'infection siège souvent dans les voies respiratoires inférieures et sa gravité varie, allant de la colonisation sans réponse immunologique à la bronchopneumonie nécrosante sévère; une telle infection grave chez des patients atteints de fibrose kystique est presque impossible à éradiquer une fois qu'elle est établie dans les voies respiratoires (Banerjee & Stableforth). La pneumonie à *Pseudomonas* se développe souvent après une contamination oro-pharyngée ou une bactériémie secondaire et cause fréquemment une pneumonie nosocomiale liée à la ventilation mécanique dans les unités de soins intensifs. Parmi les autres infections possibles, citons l'endocardite, l'ostéomyélite, les infections urinaires, les infections gastro-intestinales, la méningite et, fréquemment, la septicémie (Mena, 2009). *P. aeruginosa* est l'agent le plus souvent associé à l'infection et à l'inflammation causées par les lentilles cornéennes. La bactérie colonise les lentilles et produit des protéases pour détruire ou envahir les cellules de la cornée, infection qui peut mener à la formation de tissus cicatriciels et à une perte d'acuité visuelle (Willcox, 2007). Cette espèce est également la plus virulente, s'accompagnant d'un taux de mortalité de 30 %, qui peut être plus élevé selon les facteurs prédisposant (Enoch, Simpson, & Kibbler). *P. aeruginosa* peut aussi coloniser facilement les brûlures ouvertes, causant des infections, des abcès et une septicémie, avec œdème et/ou décoloration de la peau non brûlée sur le pourtour de la plaie et pigmentation verte dans la graisse sous-cutanée (Pruitt, Jr, Kim, & al, 1998), (Zaidi, Priebe, & Pier, 2006). Il est également associé à l'otite du baigneur (otite externe). D'autres espèces du genre *Pseudomonas* sont également opportunistes, mais les cas d'infection sont rares (F, Bienz, A, & Eckert, 2001)

# *Chapitre IV : Les levures*

### IV.1. Généralité de levures

Les levures sont des champignons unicellulaires microscopiques qui se divisent pour produire des cellules filles lorsqu'elles atteignent une certaine taille. Les cellules filles prennent généralement moins de temps pour se séparer, se développer et se diviser également.

Cependant, les propriétés de la levure n'ont pas été bien comprises jusqu'à ce que Pasteur commence à étudier la fermentation. (Guilliermond, 1912) .

La levure est la fabrique de cellules la plus couramment utilisée dans une variété d'applications de biotechnologie industrielle et sont les premiers microorganismes utilisées par l'homme depuis des Millénaire ,en particulier dans la fabrication des boissons alcoolisées et de pain par fermentation (Bouix M., 1991) .

### IV.2. L'habitat

Les levures sont largement dispersées dans la nature avec une grande variété d'habitats. On les trouve couramment sur les feuilles, les fleurs et les fruits des plantes, ainsi que dans le sol. Les levures se trouvent également à la surface de la peau et dans le tractus intestinal des animaux à sang chaud, où elles peuvent vivre en symbiose ou en parasites. (Sherman , 2002)

### IV.3. Morphologie

Ce sont des unicellulaires, et leur apparition au microscope est très nombreuse dans différentes espèces, et même dans la même espèce, elle varie d'un cultivar à l'autre. L'âge des cellules, la composition du milieu et les conditions d'existence aérobie ou anaérobie peuvent modifier la forme des cellules, même si ces changements ne sont pas permanents, La cellule de levure, comme toutes les cellules organisées, comprend deux parties distinctes, l'enveloppe cellulaire et son contenu ou protoplasma. L'enveloppe est très fine à l'état jeune ; elle s'épaissit à mesure que le globule vieillit. Plus tard elle se déforme et se ratatine lorsque la cellule est tout à fait épuisée ou morte. (Jean J, 1908)

La comparaison de *S. cerevisiae* et *S. ellipsoideus* avec *S. pastorianus* montre initialement des différences assez notable *S. cerevisiae* existe principalement sous forme de cellules rondes ou ovales, tandis que *S. ellipsoideus* présente des cellules ovales. *S. pastorianus* d'autre part, fournit des cellules principalement allongées en forme de saucisse (Guilliermond, 1912)



Figure 4 : L'observation de levures au microscope (<https://microoptique.com>)

#### IV.4. Reproduction de levure

##### IV.4.1. Reproduction asexuée

La reproduction asexuée est le processus par lequel un individu aboutit à la duplication génétique d'un ancêtre sans l'apport génétique d'un autre individu, la méthode est la suivante:

➤ **Reproduction par Bourgeonnement.**

Propagation par bourgeonnement, comme les champignons filamenteux, Un bourgeon apparaît comme une très petite saillie séparée de la cellule mère par un col très étroit et se produit généralement quelque part à la surface de la cellule. Elles se séparent alors de la cellule mère lorsqu'elles atteignent une certaine taille bien inférieure à celle de la cellule mère. Les cellules filles résultantes augmentent progressivement de volume, atteignant finalement la taille d'une cellule adulte, et subissent le même processus pour le bourgeonnement à nouveau (Guilliermond, 1912)

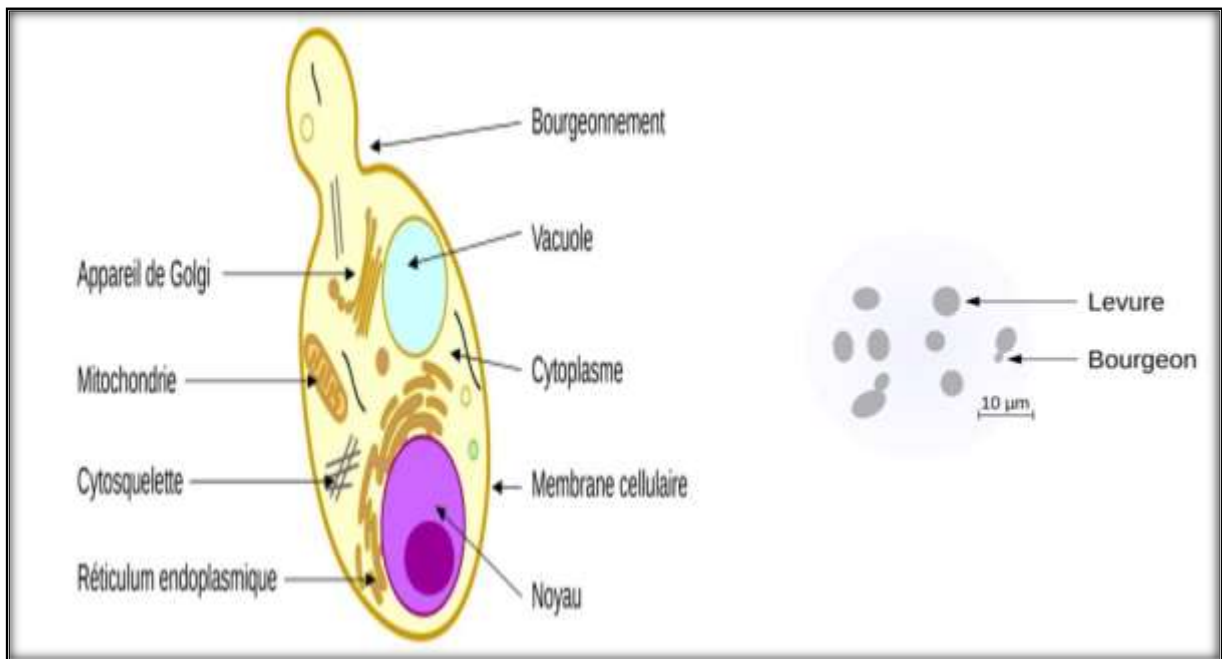


Figure 5 : le processus de bourgeonnement (levures)

#### IV.4.2. Reproduction sexuée

Les levures ont également un système de reproduction sexuée appelé conjugaison. Dans ce cas, deux cellules de complémentarité fusionnent et la cellule résultante se divise plus tard en quatre cellules, qui se séparent. Le processus de jonction commence par une déformation de chaque cellule, La conjugaison demande beaucoup d'énergie (how-yeast-cells-use-shmoos-to-schmooze).

#### IV.5. Condition de croissance

##### IV.5.1. Besoins nutritionnels

Les éléments nutritifs nécessaires à la croissance des levures Pour que continue son activité qu'elle soit de croissance, la reproduction ou d'activité métabolique, Où ces éléments sont placés au milieu et obtenus par la levure.

##### IV.5.1.1. Azote

Les aliments azotés se présentent sous quatre formes :

Sels d'ammoniac, nitrates, albuminoïdes et dérivés albuminoïdes (amides et amines), La plupart des levures peuvent assimiler différentes sources d'azote organiques et inorganiques dans la biosynthèse des acides aminés, protéines, des acides nucléiques (Guiraud, 1998), Essentiel pour

une gamme de fonctions cellulaires Des choses comme les acides aminés, les nucléotides et les coenzyme (Sanchez, 2008)

#### **IV.5.1.2. Carbone**

La levure utilise des sucres tels que la principale source de carbone et donc d'énergie, Le sucre est la source de carbone et d'énergie préférée de la plupart des organismes et a des effets puissants sur de nombreux processus biologiques cellulaires (signalisation et mécanismes adaptatifs chez levures).

#### **IV.5.1.3. Soufre**

Certaines levures (dont *Saccharomyces cerevisiae*) possèdent des systèmes de transport actifs qui utilisent ou assimilent directement le soufre contenu dans le moût. Ce métabolisme produit des composés soufrés volatils aux odeurs désagréables. Le H<sub>2</sub>S est encore plus présent lorsque le mât manque d'azote (Colett, 2010)

D'autres sels minéraux : Magnésium, Potassium, phosphore... Ils sont essentiels à la physiologie de la levure.

#### **IV.5.1.4. Les vitamines**

Les vitamines du groupe B ont été identifiées comme facteurs de croissance.

Biotine (B8), Acide pantothénique (B5), Inositol (B7), Thiamine (B1), Pyridoxine (B6) et Niacine (B3) (Guinet, 1994) cette vitamine essentielle, Impliqué dans les réactions enzymatiques telles que les coenzymes (Aguilar Uscanga)

### **IV.5.2. Condition physico-chimique**

#### **IV.5.2.1. Température**

Selon la température optimale de croissance on distingue entre organisme, les levures se situe entre 25°C et 30°C, mais comme les autres microorganismes la levure peut être classée comme psychrophiles, mésophiles et Thermophile (Werner, 2010).

#### **IV.5.2.2. Oxygène**

Toutes les levures peuvent se développer en présence d'oxygène et il n'existe pas de levures strictement anaérobies pour adapter le métabolisme. Ils préfèrent aussi la fermentation en présence d'oxygène : Métabolisme respiratoire (*Candida* et *Kluyveromyces*) (Leveau, 1993).

### IV.5.2.3. Pression

La levure peut supporter de très hautes pressions, Regnard a pu pressuriser à 1,0 atmosphères en une heure sans tuer la levure. Melsens a appliqué des pressions supérieures à 8,0 atmosphères et n'a observé aucune perte de vigueur chez les levures soumises à ce traitement (Guilliermond, 1912)

### IV.5.2.4. Ph

La croissance de microorganisme nécessite une valeur de pH optimale. La plupart des bactéries se développent sur des milieux neutres, mais les champignons, les levures et les bactéries lactiques préfèrent les milieux acides. La formation de métabolites dépend du pH (Werner, 2010)

## IV.6. Métabolisme

Comme d'autres organismes, la levure vit en présence d'oxygène (vie aérobie), Il a également une étonnante capacité à s'adapter aux environnements sans air (vie anaérobie).

### IV.6.1. Métabolisme oxydatif

Sont en présence d'air, elles produisent de grandes quantités d'énergie à partir de dioxyde de carbone, d'eau, de sucres et d'oxygène. C'est le processus métabolique de la respiration.

Dans ces conditions, l'oxydation du glucose est complète (Guinet R. G., 1994).

Glucose + oxygène -----> dioxyde de carbone + eau + énergie

Il se forme donc 13 fois plus d'ATP que par métabolisme anaérobie (Vladescu, 1994)

Toute l'énergie biochimique potentiellement contenue dans le glucose est libérée. Cette énergie permet à la levure de survivre. Cependant, il peut également être utilisé pour synthétiser de manière organique, c'est-à-dire pour entrer dans la croissance et se multiplier. Ensuite, il faut trouver d'autres nutriments dans l'environnement, notamment l'azote. Ce processus métabolique est optimisé par le fabricant pour la culture de levure (biologie-de-la-levure).

### IV.6.2. Métabolisme inoxydatif

La levure peut utiliser le sucre pour générer l'énergie dont elle a besoin pour survivre, même en l'absence d'oxygène. Pasteur a appelé ce processus métabolique la fermentation. Le sucre est transformé en dioxyde de carbone et en alcool.

L'oxydation du glucose est incomplète :



L'alcool formé contient encore beaucoup d'énergie. Le glucose libéré n'a qu'une fraction de l'énergie biochimique potentiellement disponible (environ 1/20e de la respiration) (biologie-de-la-levure).

Ce métabolisme est moins énergétique que le métabolisme oxydatif, et le rendement de la multiplication cellulaire en est affecté bien que. Ce processus fermentaire peut fonctionner en présence ou en absence partielle ou totale d'oxygène c'est-à-dire en anaérobiose (définition Levure)

#### IV.7. Classification de levure

Les règles de classification des levures et autres champignons sont basées sur le Code international de nomenclature botanique (John F.T. Spencer, 2013)

Les levures sont divisées en trois classes principales (Kregar-van rij, 1984)

Les Ascomycètes : Genre du produit La méiose ou ascospore est endogène et entourée de structures dérivées de zygotes. Asque Les Basidiomycète : Genre sexuel contenant des produits de la méiose ou des basidiospores sont exogènes.

Les deutéromycètes : se reproduisent uniquement par des genres asexués reproduction végétative.

Tableau 2 : Classification des levures (Kregar-van rij, 1984)

| Les levures ascomycètes            | levures basidiomycètes      | Les levures imparfaites    |
|------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| <i>Saccharomycetaceae</i>          | <b>Levures formant des</b>  | <i>Sporobolomycetaceae</i> |
| <b>1. Schizosaccharomycetoidea</b> | <b>teliospores</b>          | <i>Bullera</i>             |
| <i>Schizosaccharomyces</i>         | <i>Leucosporidium</i>       | <i>Sporobolomyces</i>      |
| <b>2. Saccharomycetoidea</b>       | <i>Rhodosporidium</i>       | <b>Cryptococcaceae</b>     |
| <i>Ambrosiozyma</i>                | <i>Sporidiobolus</i>        | <i>Aciculoconidium</i>     |
| <i>Arthroascus</i>                 | <b>Filobasidiaceae</b>      | <i>Brettanomyces</i>       |
| <i>Arxiozyma</i>                   | <i>Filobasidiella</i>       | <i>Candida</i>             |
| <i>Citeromyces</i>                 | <i>Filobasidium</i>         | <i>Cryptococcus</i>        |
| <i>Clavispora</i>                  | <b>Levures non classées</b> | <i>Eeniella</i>            |

|                             |                            |                            |
|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <i>Cyniclomyces</i>         | <i>Sterigmatosporidium</i> | <i>Fellomyces</i>          |
| <i>Debaryomyces</i>         |                            | <i>Kloeckera</i>           |
| <i>Dekkera</i>              |                            | <i>Malassezia</i>          |
| <i>Guilliermondella</i>     |                            | <i>Oosporidium</i>         |
| <i>Hansenula</i>            |                            | <i>Phaffia</i>             |
| <i>Issatchenkia</i>         |                            | <i>Rhodotorula</i>         |
| <i>Kluyveromyces</i>        |                            | <i>Schizoblastosporion</i> |
| <i>Lodderomyces</i>         |                            | <i>Sterigmatomyces</i>     |
| <i>Pachysolen</i>           |                            | <i>Sympodiomyces</i>       |
| <i>Pachytichospora</i>      |                            | <i>Trichosporon</i>        |
| <i>Pichia</i>               |                            | <i>Trigonopsis</i>         |
| <i>Saccharomyces</i>        |                            |                            |
| <i>Saccharomycopsis</i>     |                            |                            |
| <i>Schwanniomyces</i>       |                            |                            |
| <i>Sporopachydermia</i>     |                            |                            |
| <i>Stephanoascus</i>        |                            |                            |
| <i>Torulaspota</i>          |                            |                            |
| <i>Wickerhamiella</i>       |                            |                            |
| <i>Wingea</i>               |                            |                            |
| <i>Yarrowia</i>             |                            |                            |
| <i>Zygosaccharomyces</i>    |                            |                            |
| <b>3. Lipomycetoideae</b>   |                            |                            |
| <i>Lipomyces</i>            |                            |                            |
| <b>4. Nadsonioideae</b>     |                            |                            |
| <i>Hanseniaspora</i>        |                            |                            |
| <i>Nadsonia</i>             |                            |                            |
| <i>Saccharomycodes</i>      |                            |                            |
| <i>Wickerhamia</i>          |                            |                            |
| <b>5. Spermophthoraceae</b> |                            |                            |
| <i>Coccidiascus</i>         |                            |                            |
| <i>Metschnikowia</i>        |                            |                            |
| <i>Nematospota</i>          |                            |                            |

# *Chapitre V: L'antibiorésistance*

### **V.1. Définition des antibiotiques**

Le terme "antibiotiques" fait référence aux substances ayant la capacité de tuer les bactéries (bactéricides) ou d'arrêter la propagation des bactéries (bactériostatiques). (Bactériologie médicale, 1997).

### **V.2. Résistance aux antibiotiques**

La résistance aux antibiotiques est l'inefficacité du traitement antibiotique dans les infections bactériennes ciblées (Michel-Briand, 2009). Les bactéries sont fréquemment les exemples les plus caractéristiques d'organismes résistants à plusieurs traitements (Yvon, 2012).

### **V.3. Différents types de résistance bactérienne**

Les maladies causées par des bactéries résistantes aux médicaments antimicrobiens sont plus compliquées à soigner, exigeant des quantités importantes d'antibiotiques. (Sabry, 2022). Il existe deux formes de résistance : naturelle et acquise (Woolverton, Sherwood, & al., 2018).

#### **V.3.1. Résistance naturelle**

On évoque la résistance innée lorsqu'au sein d'une espèce bactérienne, toutes les souches sont capables de résister à un antibiotique spécifique. Cela se réfère à des bactéries qui ne sont pas affectées par le mécanisme d'action de l'antibiotique. Certaines bactéries possèdent une résistance naturelle à plusieurs molécules. (La résistance aux antibiotiques, 2017).

#### **V.3.2. Résistance acquise**

La résistance acquise découle d'une altération du matériel génétique bactérien. Les plasmides peuvent être transmis lors de la reproduction cellulaire, mais surtout, ils peuvent être transférés d'une bactérie à une autre, que ce soit au sein d'une même espèce ou entre différentes espèces. (Pebret, 2003).

### **V.4. Les mécanismes de résistance**

Les quatre mécanismes de résistance sont : l'inactivation enzymatique, la modification des protéines cibles, l'imperméabilité membranaire et l'efflux actif de l'antibiotique. (Gentilini, 2012).

#### **V.4.1. La modification des protéines cibles**

Les mutations peuvent amener les enzymes qui sont normalement inhibées par les antibiotiques à adopter une conformation qui empêche les antibiotiques de se lier avec une affinité suffisante pour inhiber leur fonction et affecter la croissance bactérienne (Schwartz & Rodhain, 2008).

#### **V.4.2. L'inactivation enzymatique**

Les bactéries contournent les enzymes cibles désactivées et activent des enzymes alternatives ou des voies métaboliques qui ne répondent pas aux antibiotiques (Schwartz & Rodhain, 2008).

#### **V.4.3. L'efflux actif de l'antibiotique**

Les bactéries peuvent initier le processus d'excrétion des antibiotiques. Ce sont des pompes à effluents qui expulsent activement les antibiotiques lorsqu'ils entrent (Hygis, 1998).

#### **V.4.4. L'imperméabilité membranaire**

Certaines bactéries Gram peuvent subir des mutations chromosomiques qui entraînent des modifications des porines. Les  $\beta$ -lactamines hydrophiles sont incapables de diffuser à travers les membranes, ce qui rend les bactéries résistantes aux antibiotiques (Barret, 2022).

*Deuxième partie*

*Matériel et Méthodes*

### **1. Objectif :**

Notre étude consiste à rechercher la présence des souches de staphylocoques, Pseudomonas et des levures dans divers échantillons de lait cru de vache et de faire la caractérisation du profil de résistance aux antibiotiques.

### **2. Lieu et durée du stage :**

Ce travail a duré environ deux mois (de 26 février au 9 mai). Il a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Larbi ben Mhidi Oum el Bouaghi.

### **3. Echantillonnage :**

#### **3.1. Origine de prélèvement**

Nous avons utilisé 20 échantillons de lait pour isoler les souches provenant de quatre régions différentes (Oum el Bouaghi, Ain Mlila, Ain el Baida et Ain Fakroun).

**Tableau 3 : L'origine de prélèvements des échantillon utilisés**

| <b>N ° de prélèvement</b> | <b>N° de référence</b> | <b>Origine</b> |
|---------------------------|------------------------|----------------|
| 01                        | E1 OEB                 | Oum el Bouaghi |
| 02                        | E2 OEB                 | Oum el Bouaghi |
| 03                        | E3 OEB                 | Oum el Bouaghi |
| 04                        | E4 OEB                 | Oum el Bouaghi |
| 05                        | E5 OEB                 | Oum el Bouaghi |
| 06                        | E6 AM                  | Ain M'Lila     |
| 07                        | E7 AM                  | Ain M'Lila     |
| 08                        | E8 AM                  | Ain M'Lila     |
| 09                        | E9 AM                  | Ain M'Lila     |
| 10                        | E10 AM                 | Ain M'Lila     |
| 11                        | E11 AB                 | Ain el Beida   |
| 12                        | E12 AB                 | Ain el Beida   |
| 13                        | E13 AB                 | Ain el Beida   |
| 14                        | E14 AB                 | Ain el Beida   |
| 15                        | E15 AB                 | Ain el Beida   |
| 16                        | E16 AF                 | Ain Fakroun    |

|    |        |             |
|----|--------|-------------|
| 17 | E17 AF | Ain Fakroun |
| 18 | E18 AF | Ain Fakroun |
| 19 | E19 AF | Ain Fakroun |
| 20 | E20 AF | Ain Fakroun |

### **3.2. Technique de prélèvement**

Les prélèvements ont été effectués de façon aseptique et dans des flacons stériles et étiquetés.

## **4. Isolement et purification**

### **➤ Les Staphylocoques**

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif pour les staphylocoques, au mannitol et riche en sels (75g/l de chlorure de sodium). (Cattoir, Denis, & Martin, Bactériologie médicale:Techniques usuelles, 2016)

Prendre à l'aide d'une pipette pasteur une goutte (0.1 ml) de la dilution 10-1 et faire un ensemencement par stries la surface du milieu Chapman. La durée de l'incubation est de 24h jusqu'à 48h à 37°C.

Pour purifier les souches de *Staphylococcus*, on fait un repiquage sur le milieu Chapman, en séparant les staphylocoques dorés des blancs.

### **➤ Les Pseudomonas**

La gélose Hektoen est un milieu sélectif pour l'isolement et la différenciation des bacilles Gram (-). (Atlas, 1995).

La purification est faite sur deux milieux : King A et King B, qui permet de distinguer différentes espèces du genre *Pseudomonas* en mettant en évidence la production de certains pigments.

L'incubation des boîtes à 42°C pendant 24 h.

### **➤ Les levures**

L'isolement de levure est réalisé sur milieu Sabouraud. Les boîtes de Pétri sont incubées à 25°C pendant 05 jours (Miguel, 2008).

Après isolement, on purifier les isolats de levure par stries complètes sur milieu Sabouraud. L'incubation est à 25°C pendant 72 heures.

## **5. conservation des souches**

Les souches sont inoculées par stries sur des tubes de gélose nutritive inclinés avec une pipette Pasteur et incubées à 37°C pendant 24heures, après quoi les souches sont maintenues à une température de 4°C.

## **6. Tests d'identification**

### **6.1. Examen macroscopique :**

C'est l'étude de l'aspect des colonies.

Il s'agit d'une observation à l'œil nu des boîtes de pétri et de noter les caractères cultureux des colonies bactérienne. (Bourguignon, et al., 2018)

### **6.2. Examen microscopique :**

L'observation microscopique permet des études morphologiques des cellules bactériennes.

#### **6.2.2. Coloration de gram pour des Staphylocoques et *Pseudomonas***

- Déposer une goutte d'eau distillée stérile sur la lame
- Une colonie bactérienne est recueillie avec une anse en platine et émulsionnée dans la goutte.
- On fixe le frottis à la chaleur, sécher puis laisser refroidir la lame.
- Faire une coloration avec Violet de Gantien pendant une minute. Rincer à l'eau du robinet.
- Recouvrir la lame de Lugol pendant une minute. Rincer à l'eau du robinet.
- Décolorer avec l'Alcool pendant 30 secondes. Rincer à l'eau du robinet.
- Recouvrir la lame de Fuchsine pendant une minute. Rincer à l'eau du robinet.
- Sécher avec papier Joseph.
- Observer au microscope optique à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile.
- Dans cette double coloration, les "bactéries Gram positives" apparaissent en violet foncé et les "bactéries Gram-négatives" se colorent en rose. (Giorgetta, 2022).

### 6.2.3. Examen a l'état frais des Levures

-Une observation directe sans fixation.

-Observation à l'objectif  $\times 40$ .

➤ **Examen après coloration de bleu de méthylène**

- Après avoir effectué le frottis bactérien (étalement , fixation)
- Placer la lame sur un support de coloration et l'inonder de bleu de méthylène. Laisser agir pendant 1-3 minutes
- Laver doucement la lame avec de l'eau distillée, égoutter l'excès d'eau, éponger (ne pas frotter) avec du papier absorbant et laisser les lames sécher complètement à l'air.

### 6.3. Test catalase :

Le test de catalase peut déterminer si les bactéries possèdent l'enzyme catalase, qui décompose le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ). (Koneman, et al., 2006)

-Au cours de l'expérience, une quantité suffisante de bactéries entre en contact avec le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). S'ils ont de la catalase, ils décomposent le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène visible, formant des bulles.



**Figure 6 : Test catalase (Tankeshwar, 2022).**

- Le test catalase est réalisé pour les souches de Staphylocoques et *Pseudomonas*.

## **6.4. Galerie biochimique :**

### **6.4.1. Test coagulase de Staphylocoques**

On met une quantité de la suspension bactérienne de l'isolat dans un tube à essai contenant du plasma de lapin et en incubant à 37°C pendant 4 heures maximum. La formation de caillots indique la production de coagulase.

### **6.4.2. Galerie biochimique classique de *Pseudomonas***

La galerie est incubée à 37°C pendant 24 heures.

- **Test Oxydase**

Ce test permet la détection de la cytochrome oxydase bactérienne. Cette enzyme est caractéristique de la plupart des espèces de *Pseudomonas*. Il permet la différenciation de bacilles à Gram négatif. (Delarras, 2014).

- Placer le disque d'oxydase sur une lame de verre et l'imbiber d'une goutte d'eau distillée stérile.
- Prélever une colonie sur le milieu gélosé avec une pipette Pasteur bouton et la déposer sur le disque

#### **Lecture :**

La présence de cytochrome oxydase se traduit par une coloration violette en 20 à 60 secondes.

- **Nitrate réductase**

Ce test va consister à mettre en évidence la présence ou non des nitrites dans le milieu de culture. S'ils sont présents, ils donnent une réaction colorée rose en présence d'acide sulfanilique (nitrite 1) et de naphtylamine (nitrite 2). Ces réactifs portent le nom de réactifs de GRIESS.

- Ensemencer le bouillon nitraté avec quelques gouttes de suspension bactérienne (Guillaume).

#### **Lecture :**

- Ajouter à la surface du milieu 3 gouttes d'acide sulfanilique (nitrite 1) puis 3 gouttes d'alpha naphtylamine (nitrite 2). Mélanger, observer.

- Coloration rouge : les nitrates encore présents dans le milieu ont été réduits en nitrites par le zinc et ont réagi avec les réactifs, la nitrate réductase est donc négative.
- Pas de coloration rouge : au contraire les nitrates du milieu ont été réduits par les bactéries et l'addition de zinc ne peut produire de nitrites. La nitrate réductase est donc positive jusqu'au stade azote (Guillaume) .
- **Citrate de Simmons**

La gélose au citrate de Simmons est utilisée pour tester si la bactérie peut utiliser le citrate pour sa seule source de carbone.

L'ensemencement est fait par stries sur la surface. (Cowan, et al., 1993)

**Lecture :**

Colonies au surface et/ou virage au bleu: citrate positif. (Cowan, et al., 1993)



**Figure 7 : milieu Citrate de Simmons positif**

- **Mannitol-mobilité**

C'est un milieu utilisé pour l'étude de la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries.

L'ensemencement est par piqûre centrale unique avec une pipette pasteur. (Branger, et al., 2007)

**Lecture :**

- Acidification du milieu (jaune) : mannitol positif.
- Trouble autour de la piqûre : bactérie mobile. (Branger, et al., 2007)



**Figure 8 : Milieu Mannitol-mobilité**

- **CLARK et LUBS**

Ce milieu est utilisé pour étudier les voies de fermentation du glucose.

On ensemence milieu Clark et Lubs avec quelque goutte de la suspension bactérienne.

-**Test VP (Voges-Proskauer)** : permet de mettre en évidence la fermentation du glucose en acétone (acétyl méthyl carbinol).

On ajoute 10 gouttes d'alpha naphthol (VP1) et le même volume de soude concentrée (VP2). (OECD, 2004)

**Lecture :**

-Milieu rouge : VP+

-Milieu jaune : VP-



**Figure 9 :Test de (Voges-Proskauer) négatif**

-**Test RM (*rouge de méthyle*)** : permet de mettre en évidence la fermentation acide mixte.

On ajoute 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle, la lecture est immédiate. (OECD, 2004)

**Lecture :**

-Milieu rouge : RM+

-Milieu jaune : RM-



**Figure 10 : Test Rouge de Méthyle négatif**

## **6.5. L'antibiogramme :**

### **6.5.1. Préparation de l'inoculum**

- A l'aide d'une anse de platine stérile, on prélève une colonie bien isolée d'une culture jeune (18heures).
- Décharger l'anse dans un tube contenant l'eau physiologique stérile
- On mélange la suspension à l'aide d'un Vortex.
- L'inoculum doit être ajusté à 0.5 MF. (EUCAST, 2022)

### **6.5.2. L'ensemencement**

- L'antibiogramme est réalisé sur milieu de MH coulé en boites de pétri sur une épaisseur de 4 mm
- L'inoculation doit être effectuée dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum.  
On Trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et on le tourner vers le côté du tube pour éliminer l'excès de liquide.
- Ensemencer trois fois toute la surface du plat d'agar et faire pivoter le plat d'environ 60° entre les stries pour garantir une distribution invariable.
- Enfin, passez l'écouvillon sur le bord de la gélose pour éliminer l'humidité.
- Les disques d'antibiotiques sont placés sur la gélose avec des pinces stériles.

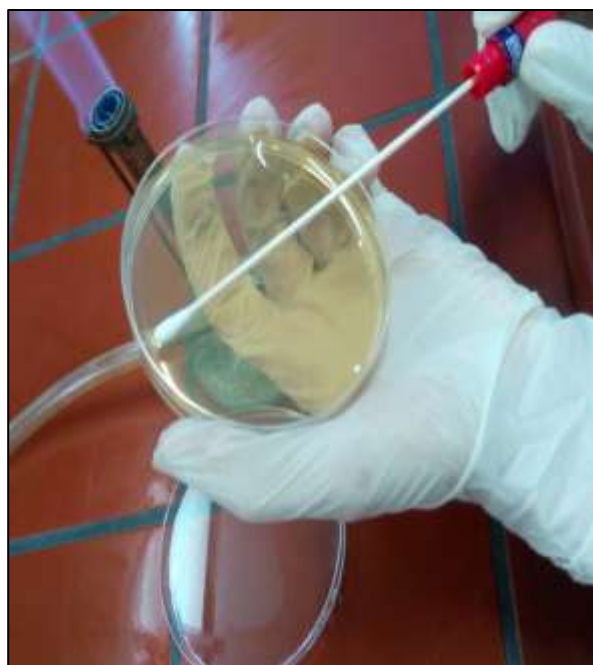
- Après 18h à 24h d'incubation, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré autour de chaque disque. En se référant aux tableaux de la norme CA-SFM, on obtient un rapport qualitatif de sensible, intermédiaire ou résistant. (EUCAST, 2022)



**Figure 11 : Préparation d'une suspension bactérienne**



**Figure 12 : Comparaison avec Mac Farland**



**Figure 13 : L'ensemencement par écouvillonnage**



**Figure 14 : Application des disques d'antibiotique**

**Tableau 4 : Les antibiotiques testés sur les souches de *Pseudomonas*.**

| <b>Antibiotique</b>   | <b>Abréviation</b> | <b>Concentration(<math>\mu\text{g}</math>)</b> |
|-----------------------|--------------------|--|
| <b>Pipéracilline</b>  | PRL                | 30( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Gentamycine</b>    | CN                 | 10( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Céftazidime</b>    | CAZ                | 30( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Amikacine</b>      | AK                 | 30( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Tobramycine</b>    | TOB                | 10( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Ciprofloxacine</b> | CIP                | 10( $\mu\text{g}$ )                            |

**Tableau 5 : Les antibiotiques testés sur les souches de *staphylocoque***

| <b>Antibiotique</b>   | <b>Abréviation</b> | <b>Concentration(<math>\mu\text{g}</math>)</b> |
|-----------------------|--------------------|--|
| <b>Pénicilline</b>    | P                  | 10( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Kanamycine</b>     | K                  | 30( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Erythromycine</b>  | E                  | 15( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Céfoxitine</b>     | Fox                | 30( $\mu\text{g}$ )                            |
| <b>Rifampycine</b>    | RA                 | 5( $\mu\text{g}$ )                             |
| <b>Ciprofloxacine</b> | CIP                | 5( $\mu\text{g}$ )                             |

*Troisième partie*

*Résultat et discussion*

## **1. Fréquence d'isolement**

A partir de 20 échantillons de lait de vache, on a pu isolé les souches suivantes :

- 23 souches de staphylocoque (15 *S. dorés* et 8 *S. blancs*)
- 05 souches de *Pseudomonas*
- 09 souches de levure

Les région avec la plus haute fréquence d'isolement de bactérie de genre *pseudomonas* sont Oum el Bouaghi et Ain M'Lila .

La région avec la plus haute fréquence d'isolement de bactérie de staphylocoques blancs est Ain Fakroun ,et Ain Baida pour les staphylocoques dorés.

## **2. Examen macroscopique**

### **2.1. Les staphylocoques sur milieu Chapman**

Les colonies apparaissent, bombées, lisses, 1-3 mm de diamètre, circulaires.

Vu l'acidification du milieu (virage au jaune) donc il s'agit probablement de *Staphylococcus aureus*.

Dans le cas le milieu reste rouge donc il s'agit probablement des Staphylocoques blancs.



**Figure 15 : L'aspect macroscopique de la souche E4 *S.doré***

### **2.2. Les bactéries de genre *Pseudomonas* sur milieu Hektoen**

Les Colonies sont larges, vertes, plats, irrégulières.

## Résultat et discussion

Une odeur caractéristique de la fleur de « seringa » due à la production d'orthoamino-acétophénone : une probabilité de *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figure 16 : L'aspect macroscopique de la souche *Pseudomonas* sur milieu Hektoen (E7 AM)**

### 2.2.1. Mise en évidence des pigments produits par *Pseudomonas ssp*

Le milieu King B est coloré en jaune-vert et King A en bleu : Production des deux pigments : pyocyanine et pyoverdine.



**Figure 17 : Les pigments produits par *Pseudomonas ssp* sur milieu King A et King B (E3 OEB)**

### 2.3. L'aspect macroscopique des levures sur milieu Sabouraud :

Les colonies sont de 2 mm de diamètre, souvent blanches, crémeuses, lisses et brillantes.

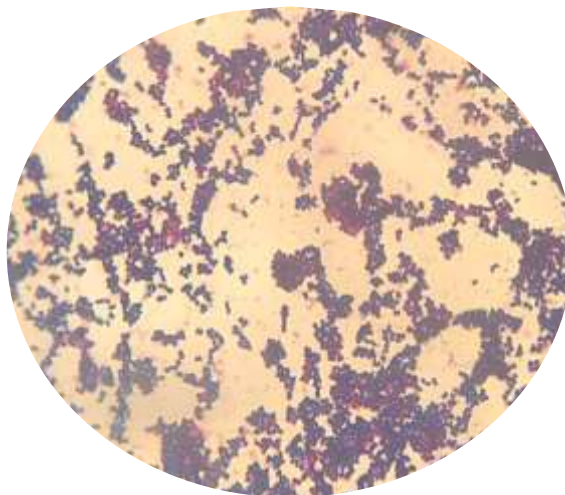


**Figure 18 : L'aspect macroscopique des levures sur milieu Sabouraud**

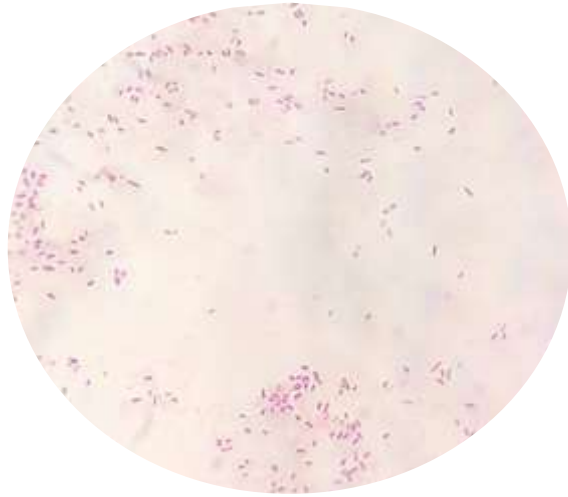
### **3. Examen microscopique :**

Les frottis sont observés au microscope optique après coloration avec l'objectif x 100.

#### **3.1. Coloration de Gram**

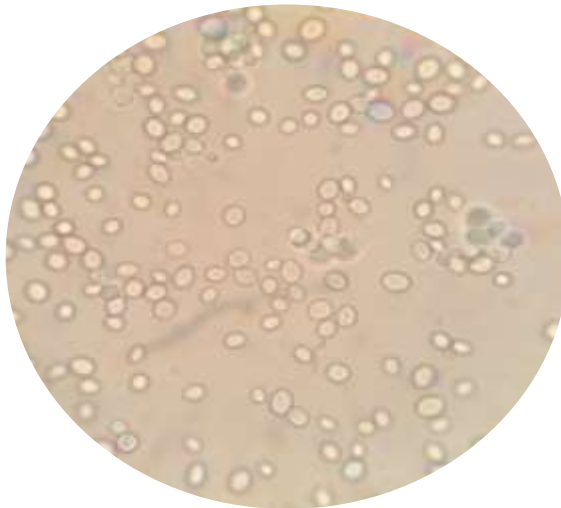


**Figure 19 : Coloration de GRAM de la souche Staphylocoque E16 AF (S.doré) ;  
(objectif x100).**



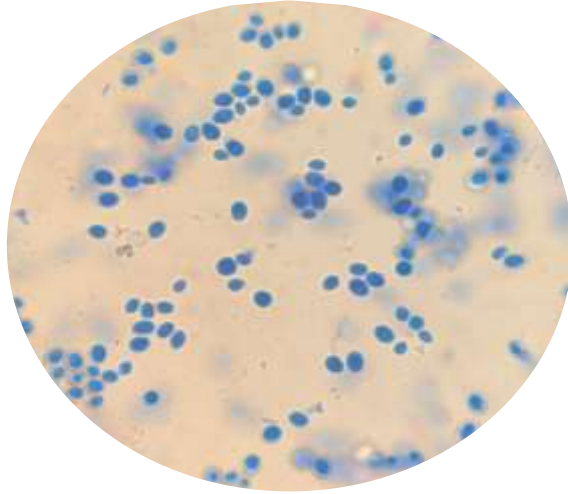
**Figure :** Coloration de GRAM de la souche Pseudomonas E3 OEB ; (objectif x100).

**3.2. Etat frais :**



**Figure 20 :** Observation à l'état fris de la souche de levure E9 AM ; (objectif x100).

### 3.3. Coloration de bleu de méthylène



**Figure 21 : Observation après coloration de la souche de levure E9 AM ; (objectif x100).**

## 4. Identification biochimique des Staphylocoques :

### 4.1. Test de la catalase

Les souches de Staphylocoque isolées ont été testées pour la catalase.



**Figure 22 : Test de catalase positif**

Toutes les souches ont été testées positives pour la catalase, un pourcentage de 100%.

### 4.2. Test coagulase

Nous avons isolé 15 souches de staphylocoques coagulase positif (doré) qui présentent 65%, et 8 souche à coagulase négatif (blanc), un pourcentage de 35%.



Figure 23 : test de coagulase (test-/test+)

5. Identification biochimique de genre de *Pseudomonas* :

Tableau 6 : Résultats de galerie biochimique de genre *Pseudomonas*

|          | Catalase | Oxydase | Nitrate réductase | Citrate de Simmons | Mannitol | VP | RM |
|----------|----------|---------|-------------------|--------------------|----------|----|----|
| Souche01 | +        | +       | +                 | +                  | -        | -  | -  |
| Souche02 | +        | +       | +                 | +                  | -        | -  | -  |
| Souche03 | +        | +       | +                 | +                  | -        | -  | -  |
| Souche04 | +        | +       | +                 | +                  | -        | -  | -  |
| Souche05 | +        | +       | +                 | +                  | -        | -  | -  |

6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées :

Les résultats de l'antibiogramme sont interprétés après 24 heures d'incubation à 37°C.

Nous avons testé 23 souches de *Staphylococcus* (15 *S. dorés* et 8 *S. blancs*) et 5 souches de *Pseudomonas* pour la sensibilité chaque à 6 antibiotiques de différentes familles par des méthodes d'antibiogramme standard. Le pourcentage de résistance de *Staphylocoques* et *Pseudomonas ssp* est indiqué dans les graphiques (Tableaux 7-8-9).

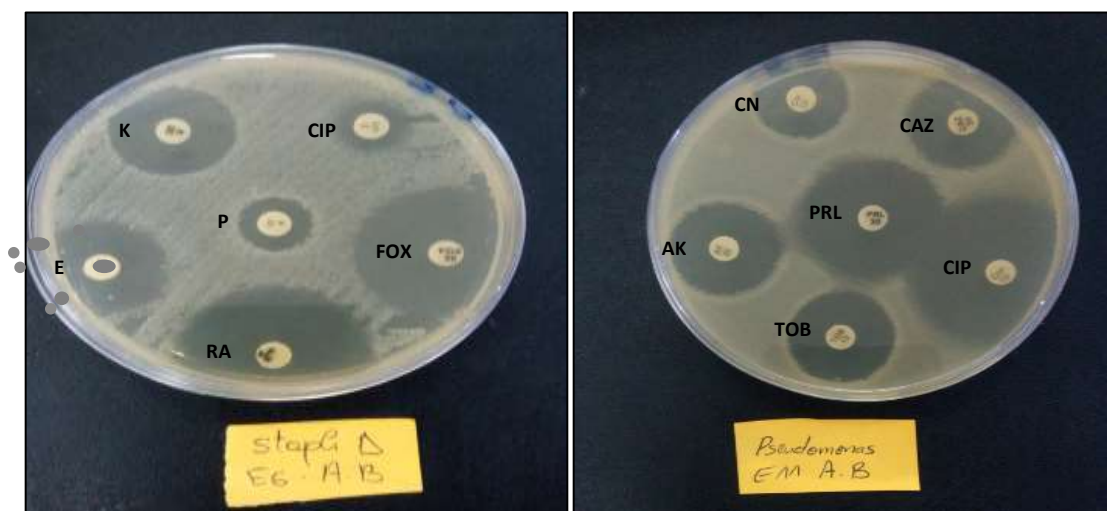


Figure 24 : Résultats de l'antibiogramme des souches(E09.AM) et (E11.AB)

### 6.1. La résistance de *Pseudomonas ssp* aux antibiotiques :

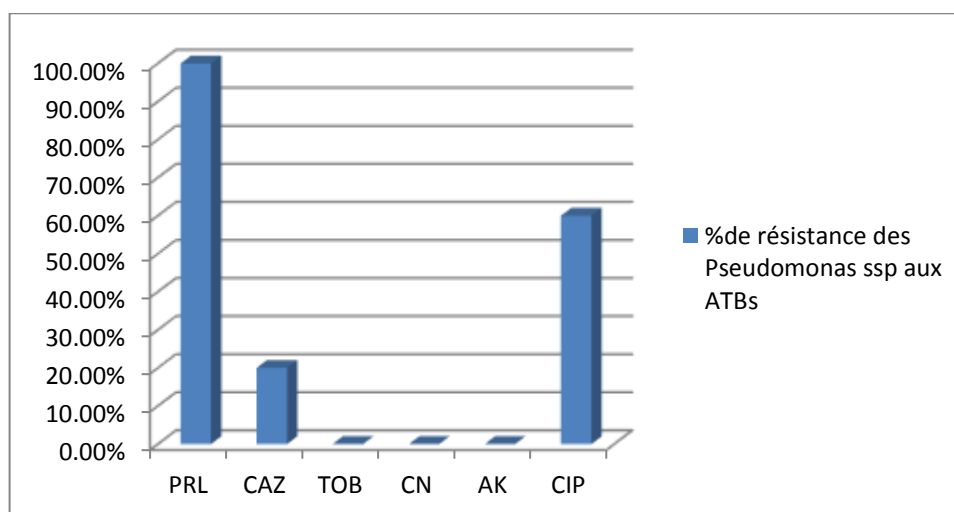


Figure 25 :Pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches de genre *Pseudomonas*.

**PRL** : Pipéracilline, **CN** : Gentamycine, **CAZ** : Céftazidime, **AK** : Amikacine, **TOB** : Tobramycine, **CIP** : Ciprofloxacine

- **Les  $\beta$ -lactamines**

Les souches isolées présentent une résistance totale aux Pipéracilline (PRL:100%) et un pourcentage (CAZ : 20%) aux Céftazidime, qui sont très élevée par rapport les résultats obtenus par (Darghout, et al., 2016) en Constantine (PRL : 15%) et (CAZ :5%),qui sont d'origine médicale.

- **Les Aminosides**

La Gentamycine, l'Amikacine et Tobramycine ont gardés tous sons efficacité avec un taux de résistance 0%.

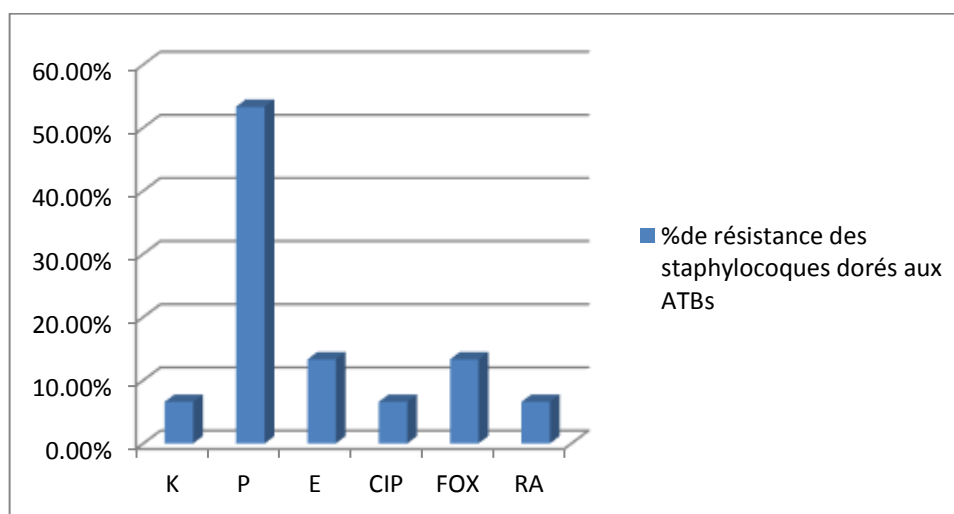
- **Les Fluoroquinolones**

Nous avons enregistré un taux de résistance élevé aux Ciprofloxacine (CIP : 60%) qu'il est relativement forte par rapport à ceux rapportés par (Bendebbeche, et al., 2022).

## 6.2. La résistance de Staphylocoques aux antibiotiques :

Le pourcentage de résistance est indiqué dans les graphiques (figure 26-27).

### 6.2.1. La résistance des Staphylocoques dorés :



**Figure 26 : Pourcentage de résistance des Staphylocoques dorés**

**P** : Pénicilline, **K** : Kanamycine, **E** : Erythromycine, **Fox** : Céfoxitine, **RA** : Rifampycine, **CIP** : Ciprofloxacine

- **Les  $\beta$ -lactamines**

Le taux de résistance le plus élevé parmi les antibiotiques testés a été observé avec la pénicilline (P : 53.3%) et Céfoxitine (FOX : 13.6%), Nos résultats sont très proches de ceux observés par (Lebdjiri, 2017) en Alger, laquelle a obtenu un taux de résistance aux beta-lactamines (P : 37% ; FOX :5%).

La résistance staphylococcique aux  $\beta$ -lactames est basés sur deux grands types de mécanismes, ils sont les mêmes pour les *S.dorés* et *S.blanc* : un mécanisme de résistance

extrinsèque produite par les enzymes d'inactivation des antibiotiques et mécanismes de résistance Intrinsèque en modifiant la protéine de liaison à pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP. (Mainardi, et al., 2001).

- **Les Aminosides**

Un faible taux de résistance a été obtenus pour le Kanamycine (K : 6.6%). La résultat est proches avec ce de Chaalal (2013) qui a montré un pourcentage de résistance (K : 16%) ;par contre (Bensmara, et al., 2018)qui ont enregistré une nulle résistance aux Kanamycine (K :0%).

La résistance des staphylocoques aux aminosides est particulièrement liée à l'acquisition, via des transposons ou des plasmides, d'enzymes qui inactivent ces antibiotiques. (Cattoir, et al., 2016).

- **Les Macrolides**

Une fréquence de résistance à l'Erythromycine (E : 13.3%), Ce qui concorde avec celui de (Baba.Moussa, et al., 1999) en Bénin qui ont enregistré une sensibilité (E : 12.6%).

La diminution de l'affinité des sites ribosomiaux pour les macrolides est le mécanismes de résistance le plus souvent rencontré (Bustany, et al., 1993).

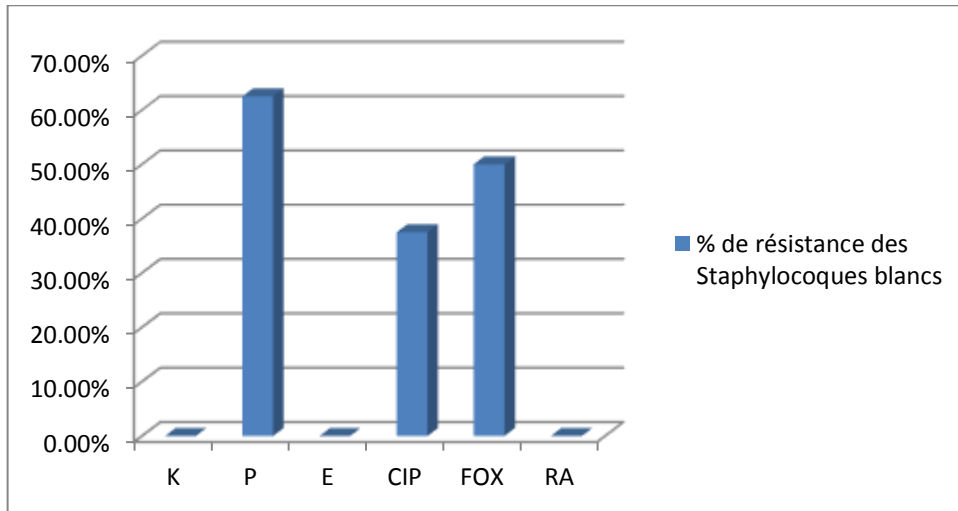
- **Les Fluoroquinolones**

On a trouvé le taux de résistance faible pour le Fluoroquinolones vis-à-vis de la Ciprofloxacin (CIP :6.6%),nos résultats sont presque similaire à celui de (Bensmara, et al., 2018) qui ont signalé un taux de résistances (CIP :5%).

- **Le Rifampycine**

Nous avons signalé une résistance aux Rifampycine de pourcentage de (RA :6.6%), qu'il est relativement élevé par rapport à ceux rapportés par (Baba.Moussa, et al., 1999)en Togo.

### 6.2.2. La résistance des Staphylocoques blancs



**Figure 27 : Pourcentage de résistance des Staphylocoques blancs**

**P** : Pénicilline, **K** : Kanamycine, **E** : Erythromycine, **Fox** : Céfoxitine, **RA** : Rifampycine, **CIP** : Ciprofloxacine

Notre étude montre des taux de résistance contre la Pénicilline et Céfoxitine (P : 62.5% et FOX : 50%), ils sont élevés au comparaisn de l'étude réalisée par (Zahlane, et al., 2007) en Rabat qui ont enregistré des résultats de (P : 10.5% )

Une sensibilité totale aux Kanamycine et Erythromycine (K : 0% et E :0%)par contre de celui de (Zahlane, et al., 2007) (E :50.8% et K :39.1%).

Nos souches isolées révèlent des pourcentages de(CIP :37.5%) pour la Ciprofloxacine et(RA :0%)pour la Rifampycine par contre des taux obtenus par (Bensmara, et al., 2018)(CIP : 0% et RA :10%).

La multi-résistance bactérienne de *Pseudomonas ssp* :

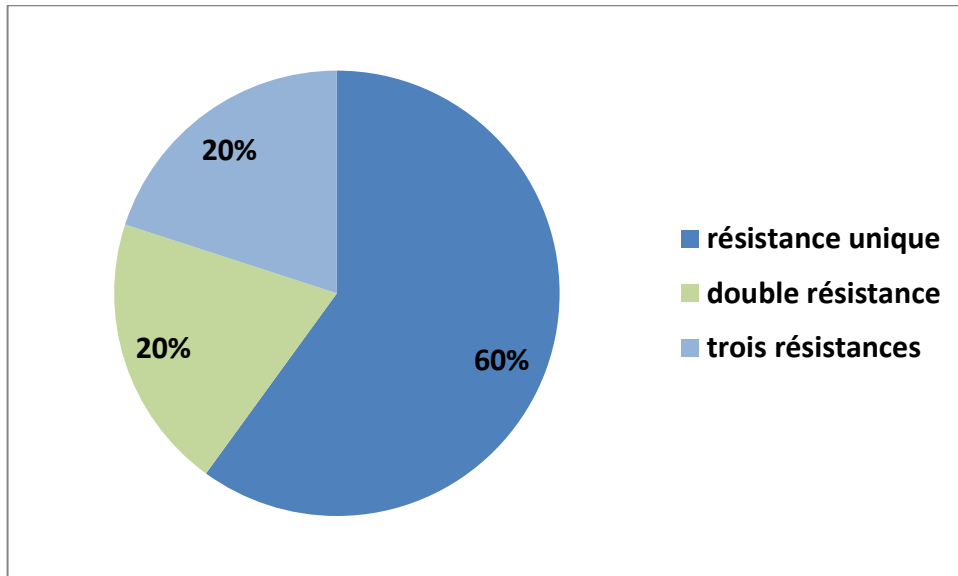


Figure 28 : Répartition des pourcentages de multi-résistance des *Pseudomonas ssp*

La multi-résistance bactérienne de Staphylocoques :

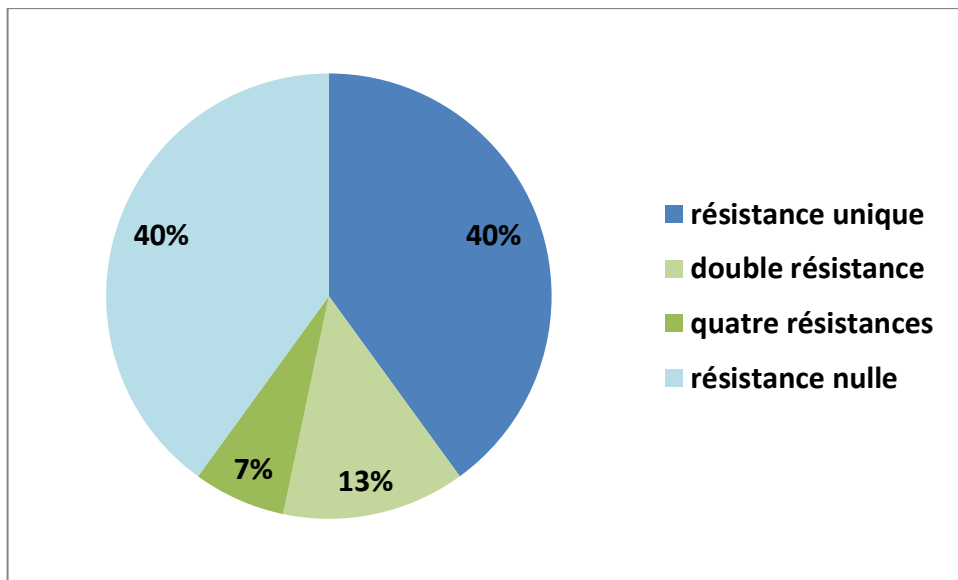


Figure 29 : Répartition des pourcentages de multi-résistance des Staphylocoques dorés

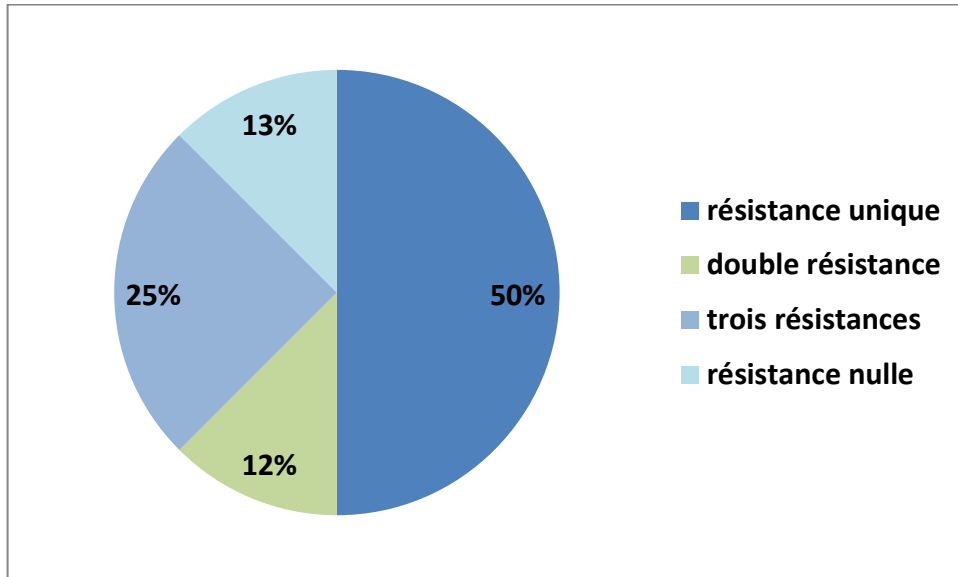


Figure 30 : Répartition des pourcentages de multi-résistance des Staphylocoques Blanc

# *Conclusion*

## *Conclusion*

Le lait est un aliment très nutritif, il occupe une place importante dans l'alimentation humaine car il contient les nutriments de base nécessaires au bon développement de l'organisme humain. Elle reste donc essentielle tout au long de la vie.

Les Staphylocoques et Pseudomonas sont des contaminants du lait cru et restent difficiles à contrôler dans les aliments.

Les résultats d'antibiogramme obtenus sont très alarmants. Cela est probablement dû au mauvais usage des antibiotiques et à l'absence d'une politique nationale de surveillance clairement définie. Il est donc nécessaire de contrôler strictement l'utilisation des antibiotiques par les vétérinaires et les éleveurs pour lutter contre le phénomène de sélection de mutants résistants.

# *Bibliographie*

## ***Bibliographie***

- Aguilar Uscanga, B.-R. (s.d.). *Influence des paramètres de croissance et des conditions de mise en œuvre sur la composition et l'architecture de la paroi cellulaire de la levure Saccharomyces cerevisiae* thèse INSA. Toulouse.
- Alonso, A. (2009). Staphylococcus aureus sécrétant la leucocidine de Panton Valentine: revue de 5 cas. . France.
- Aly, R., & Levit, S. (1987). Adherence of Staphylococcus aureus to Squamous Epithelium: Role of Fibronectin and Teichoic Acid. *Clinical Infectious Diseases*, 9.
- Ananthanarayan . R, P. C. (2017). *Ananthanarayan and Paniker's Textbook of microbiology* (éd. 10). (R. Kanungo, Éd.) Hyderabad, Universities press, Inde.
- Anne Tristan, J. P. (2019, Juillet). *BACTERIE\_Staphylococcus*. Consulté le Mai 06, 2023, sur [sfm-microbiologie.org: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE\\_Staphylococcus.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/content/uploads/2019/07/BACTERIE_Staphylococcus.pdf)
- Astagneau. P, A. T. (2011). *Surveillance épidémiologique :Principes, méthodes et applications en santé publique*. (B. Brottier, Éd.) Paris: Lavoisier S.A.S.
- Atlas, R. M. (1995). *Handbook of media for environmental microbiology*. CRC-Press.
- Baba.Moussa, L., I, A. S., Dagnra, A., Anagonou, S., & Prince-David, M. (1999). Approche épidémiologique de l'antihiorbistance et de la productio de leucotoxines par les souches de staphylococcus aureus isolées en Afrique de l'Ouest. 29 : 689-96.
- Bactériologie médicale*. (1997). Presses universitaires de Lyon, France.
- Banerjee, D., & Stableforth, D. (s.d.). The treatment of respiratory pseudomonas infection in cystic fibrosis : what drug and which way? *Drugs*.
- Barret, R. (2022). *Chimie des médicaments de type bêta-lactame*. ISTE Editions Limited.
- Bendebbeche, R., Zaidi, A., & Mehiri, A. (2022). *Phénotype de resistance aux antibiotique des souches de Pseudomonas aeruginosa responsable d'infections* *Memoire de Master*:. Oum-El Bouaghi: Université L'Arbi Ben M'Hidi.

- Bensmara, K., & Chibani, K. (2018). *Mémoire de Master Etude de la résistance aux antibiotiques des Staphylocoques dorés et blancs isolées à partir le lait cru commercialisé de la région Ain M'lila, Ain Fakroun et Oum El Bouaghi*. OUM EL BOUAGHI: UNIVERSITE LARBI BEN M'HIDI.
- biologie-de-la-levure*. (s.d.). Consulté le 5 5, 2023, sur chambresyndicalelevure: <https://www.chambresyndicalelevure.com/a-propos-de-la-levure/biologie-de-la-levure/>
- Bouix M., a. L. (1991). *Techniques d analyse et de controle dans les indistries agroalimentaire* (éd. Tec et doc). paris.
- Bourguignon, A., & al, e. (2018). *Cas cliniques en infectiologie*. De Boeck supérieur.
- Branger, A., Sébastien, R., & Marie-Madeleine, R. (2007). *Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques*. (Educagri, Éd.)
- Bustany, P., Chaumet-Riffaud, P.-D., & Chaumet-Riffaud, P. (1993). *Internat, nouveau programme Tome 17:Pharmacologie*. Editions Beauchesne.
- Carid, G. (2006). *Mèmento de lagronome* (éd. Quae).
- Cattoir, V., Denis, F., & Martin, C. (2016). *Bactériologie médicale:Techniques usuelles*. Elsevier Masson SAS.
- Colett, N. (2010). *L'œnologie* (éd. Tec et doc 7e).
- Cowan, S. T., & Kenneth Steel, j. (1993). *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. (R. K. G. I. Barrow, Éd.)
- Darghout, S., & Metheni, A. (2016). *Mémoire de Master:Caractérisation morphologique, biochimique et mutagenèse des souches de Pseudomonas aeruginosa dans la région de Constantine*. Constantine: Université des Frères Mentouri .
- definition Levure*. (s.d.). Consulté le 5 5, 2023, sur techno-science: <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Levure-page-2.html>
- Delarras, C. (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire ? Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Lavoisier.
- EL Kouri, D., Pottier, M., & al, e. (1998). Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl Méd Chir*.

- Enoch, Simpson, A., & Kibbler, C. (s.d.). Predictive value of isolating *Pseudomonas aeruginosa* from aerobic and anaerobic blood culture bottles. *Medical Microbiology*.
- EUCAST. (2022). *Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie* (Vol. 1,0).
- Eyquem, A., & Joseph Alouf, e. a. (2000). *Traité de microbiologie clinique*.
- F, K., Bienz, A, K., & Eckert, J. e. (2001). *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. Metrics*.
- Feldman, B. R. (s.d.). Role of flagella in pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection.
- Freney, J., Renaud, F., Hansen, W., & al, e. (2000). *Précis de bactériologie clinique*. (A. Lacassagne, Éd.)
- Gautier.M.Y. (2010). *Staphylococcus aureus. Chapitre Taxonomie et habitat*. (C. d. Larpent, Éd.) *Monographies de microbiologie*.
- Gentilini, M. (2012). *Médecine tropicale* (éd. 6). Lavoisier.
- Giorgetta, J. (2022 йил 03-Юин). Gram négatif : définition, couleur, espèces représentatives. *Journal des femmes santé*.
- Guillaume, P.-Y. (s.d.). RECHERCHE DE LA NITRATE – REDUCTASE A. *Les tests en microbiologie*, 1.
- Guilliermond, A. (1912). *Les levures*. Paris.
- Guinet, R. e. (1994). *La panification Française* (éd. Tec&Doc).
- Guiraud, J. (1998). *Microbiologie alimentaire* (éd. Dunod).
- Guiraud, J. e. (2004). *Pratique des normes en microbiologie* (éd. AFNOR).
- Hart Tony, S. P. (1997). *Atlas de poche en microbiologie*.
- Hassan, A., & al, e. (2017, Juillet 28). ISSN 1937-8688. *The Pan African Medical Journal*, 27: 230.
- how-yeast-cells-use-shmoos-to-schmooze*. (s.d.). Consulté le 5 2, 2023, sur cordis.europa: <https://cordis.europa.eu/article/id/32003-how-yeast-cells-use-shmoos-to-schmooze/fr>

- <https://microptique.com>. (s.d.). /blogs/articles-microscopes/observation-de-levures-au-microscope.
- Hygis, N. (1998). *Hygiène hospitalière*. Presses Universitaires de Lyon.
- Jack, M. L. (1993). *Biologie de lactation*. (Quae, Éd.)
- Jean J, L. (1908). *Cours doenologie* (Vol. 1). Paris.
- Jl, G., & J, L. (1993, 13 5). *Pseudomonas syringae, bactérie épiphyte, glaçogène et*. Consulté le 5 4, 2023, sur hal.science.
- John F.T.Spencer, D. e. (2013). *Yeasts in Natural and Artificial Habitat*.
- Kaan, T. E. (2007). *Microbiological Quality of UHT Milk*.
- Kacimi El Hassani, S. (2013). *La dépendance alimentaire en Algérie: importation de lait en poudre versus production locale* (Vol. 4). quelle évolution?. Mediterranean Journal Of Social Sciences.
- Kierzek, G. (2022, Juin 09). *Le staphylocoque, une bactérie potentiellement mortelle*. Consulté le Mai 06, 2023, sur doctissimo: <https://www.doctissimo.fr/sante/maladie-infectieuse/staphylocoque>
- Koneman, E., & Winn, W. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Kregar-van rij, N. (1984). the yeast a taxonomic study. *Elsievier biomédical*.
- La résistance aux antibiotiques*. (2017, Mars 02). Consulté le Mai 07, 2023, sur vidal.
- Larry M. Bush, e. M.-P. (2021, mars). *Infections staphylococciques*. Consulté le 05 06, 2023, sur msdmanuals: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/cocci-gram-positifs/infections-staphylococciques>
- Lebdjiri, k. (2017). *Mémoire de Master: Etude de l'antibiorésistance de staphylococcus aureus isolées du lait cru de citernes*. Alger: École Nationale Supérieure Vétérinaire .
- Leveau, Y. e. (1993). *Microbiologie industrielle les micro-organismes d'intérêt industriel* (éd. Tec & DoC).
- levures*. (s.d.). Consulté le 5 1, 2023, sur souslemicroscope: <https://souslemicroscope.com/levures/>

- L-Hadi Djamel, A. A. (2015). *Etude de la qualité physico-chimique deux types de laits reconstitués (pasteurisé et stérilisé)* (Vol. 5(2)). revue Agrobiologia.
- LIU, P. V., & MERCER, C. B. (s.d.). Growth, Toxigenicity and Virulence of *Pseudomonas Aeruginosa*. . *Hygiene*.
- Mainardi, J., & Quincampoix, J. (2001 йил 23-Janvier). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS*, 75, 268.
- Marazza, G., Borradori, L., & Harbarth, S. (2007, Mai 02). Infections cutanées sévères à *Staphylococcus aureus* producteur de leucocidine de Panton-Valentine : un nouveau défi. *Revue médicale suisse*.
- Mena, K. D. (2009). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*.
- Michel-Briand, Y. (2009). *Une histoire de la résistance aux antibiotiques: à propos de six bactéries*. France: Harmattan.
- Midireh, I. (s.d.). *Diagnostic-bactériologique-Pseudomonas*. Consulté le 5 4 , 2023, sur microbiologie-clinique: <https://microbiologie-clinique.com/Diagnostic-bact%3%A9riologique-Pseudomonas.html>
- Midireh.I. (s.d.). *Diagnostic-bactériologique-Staphylocoque*. Consulté le Mai 06, 2023, sur microbiologie-clinique.com: <https://microbiologie-clinique.com/Diagnostic-bact%3%A9riologique-Staphylocoque.html>
- Miguel, P. (2008). *Annales de micrographie spécialement consacrées à la bactériologie, aux protophytes et aux protozoaires*. (G. Carré, Éd.) l'Université du Michigan.
- Mouton, W. (2018). *Etude de l'impact de Staphylococcus aureus sur la formation du tissu osseux: Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études*. Sciences de la Vie et de la Terre: ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES.
- Mrabet, S. (2020). *L'antibiogramme: revue des méthodes phénotypiques et automatisation*.
- Névine, E. S. (2022). « STAPHYLOCOQUES ». Consulté le Mai 05, 2023, sur Encyclopædia Universalis [en ligne]: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/staphylocoques/2-morphologie-et-caracteres-culturels-du-germe-classification>
- OECD. (2004). *Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 1 Essai n° 111: Hydrolyse en fonction du pH*. (O. Publishing, Éd.)

- Parsonnet, J., Hansmann, M., Delaney, M., Modern, P., Dubois, A., Wiedland-Alter, W., & al, e. (2005, Septembre). Prevalence of toxic shock syndrome toxin-1-producing *Staphylococcus aureus* and the presence of antibodies to this superantigen in menstruating women. *J Clin microbio*, 43(9):4628–34.
- Pebret, F. (2003). *Maladies infectieuses:toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales*. Heures de France.
- Pruitt, B. A., Jr, M. A., Kim, S. H., & al, e. (1998). Burn wound infections : current status. *World. Surgery*.
- Robert, D. (2013). *Staphylococcus aureus résistant à la methicilline (SARM) : Généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises et implication en pathologie communautaire illustré par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive (thèse. université Angers .*
- Roesel, K., & Grace, D. (2014). *Sécurité sanitaire des aliments et marchés informels: les produits d'origine animale en Afrique Subsaharienne*. ILRI.
- Sabry, F. (2022). *Phagothérapie: Alternative aux antibiotiques lorsque les superbactéries deviennent immunisées*. (N. Souplet, Trad.) France: Un Milliard De Personnes Informées.
- Sanchez, Y. (2008). *Etude de l'adaptation et de la gestion de l'activité cellulaire dans un bioréacteur biétagé: intensification de la production d'éthanol Thèse de Doctorat*. Université Toulouse.
- Sandra, I. (2001). *Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie.Thèse de doctorat laitière*. Toulouse: Ecole nationale vétérinaire.
- Schwartz, M., & Rodhain, F. (2008, Janvier 17). *Des microbes et des hommes, qui va l'emporter ?* Editions Odile Jacob.
- Sherman , F. (2002). Getting started with yeast *Methods Enzymol*. 350:3-41.
- signalisation-et-mecanismes-adaptatifs-chez-levures*. (s.d.). Consulté le 5 2, 2023, sur map.insa-lyon: <https://map.insa-lyon.fr/fr/content/signalisation-et-mecanismes-adaptatifs-chez->

levures?fbclid=IwAR3GDVb9t9rNhkd7d1rHL3SPeP2MEpfQgSXBho9AcI8jrWzkw1zRUGuAP68

Tankeshwar, A. (2022 йил 27-Septembre). Catalase test: Principle, Procedure, Results, Uses. *Microbeonline*.

Université Pierre et Marie Curie Bactériologie, f. d. (2003). *Cour pour le niveau DCEM1 2002-2003*.

Verdier Isabelle, G. L. (2015). *Cour les Cocci à Gram positif Staphylococcus aureus [en ligne]*.

vignol, C. (2002). *Science et Technologie du Lait Transformation du Lait presses internationales polytechnique Montréal*.

Vignola, C. (2002). *Science et Technologie du Lait Transformation du Lait* (éd. Edition Presses Internationales Polytechnique). Canada.

Vladescu, B. (1994). *La levure dans les industries alimentaires* (éd. Tec & Doc ).

Vuillemard, J.-C. (2018). *Science et technologie de lait* (éd. 3). Canada.

Werner, J. e. (2010). *Science et technologie des aliments*.

Willcox, M. D. (2007). *Pseudomonas aeruginosa infection and inflammation during contact lens wear*.

Woolverton, C. J., Sherwood, L. M., & al., e. (2018). *Microbiologie de Prescott*. (J. Coyette, Trad.) De Boeck supérieur.

Yvon, M. (2012). *Aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques*. France: L'Harmattan.

Zahlane, K., Haouach, K., & Zouhdi, M. (2007 йил Décembre). Staphylocoque : état actuel de l'épidémiologie et de l'antibiorésistance au CHU de Rabat. *MAROC MEDICAL*, 29 (4).

Zaidi, T. S., Priebe, G. P., & Pier, G. B. (2006). *A live-attenuated Pseudomonas aeruginosa vaccine elicits outer membrane protein-specific active and passive protection against corneal infection*. *Infection and Immunity*,. Consulté le 5 4, 2023, sur [pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/).



# *Annexes*

**Annexe 01 :**  
**Tableau 7 : Profil de résistance des *Pseudomonas ssp***

|                       | <b>PRL</b> | <b>CAZ</b> | <b>TOB</b> | <b>CN</b> | <b>AK</b> | <b>CIP</b> |
|-----------------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|------------|
| <b>E03. OEB</b>       | R          | S          | S          | S         | S         | S          |
| <b>E05 .OEB</b>       | R          | S          | S          | S         | S         | R          |
| <b>E07 .AM</b>        | R          | S          | S          | S         | S         | S          |
| <b>E09 .AM</b>        | R          | S          | S          | S         | S         | S          |
| <b>E11 .AB</b>        | R          | I          | S          | S         | S         | R          |
| <b>%de résistance</b> | 100%       | 20%        | 0%         | 0%        | 0%        | 60%        |

**Tableau 8 : Profil de résistance des staphylocoques blancs.**

|                       | <b>K</b> | <b>P</b> | <b>E</b> | <b>CIP</b> | <b>FOX</b> | <b>RA</b> |
|-----------------------|----------|----------|----------|------------|------------|-----------|
| <b>E02.OEB.B</b>      | S        | R        | S        | I          | R          | S         |
| <b>E03.OEB.B</b>      | S        | R        | S        | I          | R          | S         |
| <b>E06.AM.B</b>       | S        | R        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E12.AB.B</b>       | S        | R        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E13.AB.B</b>       | S        | S        | S        | I          | R          | S         |
| <b>E18.AF.B</b>       | S        | S        | S        | S          | R          | S         |
| <b>E19.AF.B</b>       | S        | S        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E20.AF.B</b>       | S        | R        | S        | S          | S          | S         |
| <b>%de résistance</b> | 0%       | 62.5%    | 0%       | 37.5%      | 50%        | 0%        |

**Tableau 9 : Profil de résistance des Staphylocoques dorés.**

|                       | <b>K</b> | <b>P</b> | <b>E</b> | <b>CIP</b> | <b>FOX</b> | <b>RA</b> |
|-----------------------|----------|----------|----------|------------|------------|-----------|
| <b>E01.OEB.D</b>      | S        | R        | S        | R          | S          | S         |
| <b>E02.OEB.D</b>      | S        | S        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E04.OEB.D</b>      | S        | R        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E06.AM.D</b>       | S        | S        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E07.AM.D</b>       | S        | S        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E09.AM.D</b>       | S        | S        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E10.AM.D</b>       | S        | S        | S        | S          | R          | S         |
| <b>E11.AB.D</b>       | S        | R        | I        | S          | S          | S         |
| <b>E12.AB.D</b>       | S        | R        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E13.AB.D</b>       | S        | R        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E14.AB.D</b>       | S        | S        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E15.AB.D</b>       | R        | R        | I        | S          | R          | I         |
| <b>E16.AF.D</b>       | S        | R        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E17.AF.D</b>       | S        | S        | S        | S          | S          | S         |
| <b>E18.AF.D</b>       | S        | R        | S        | S          | S          | S         |
| <b>%de résistance</b> | 6.6%     | 53.3%    | 13.3%    | 6.6%       | 13.3%      | 6.6%      |

**Annexe 02 : Réactifs**

**Bleu de méthylène :**

|                        |        |
|------------------------|--------|
| Bleu de méthylène..... | 20.0g  |
| Phénol.....            | 20.0g  |
| Éthanol à 0.95.....    | 10 ml  |
| Eau distillée.....     | 100 ml |

**Réactifs de la coloration de Gram :**

**Violet de Gentien :**

|                         |        |
|-------------------------|--------|
| Phénol.....             | 2.0 g  |
| Violet de gentiane..... | 1.0 g  |
| Éthanol à 90° .....     | 10 ml  |
| Eau distillée.....      | 100 ml |

**Lugol :**

|                          |        |
|--------------------------|--------|
| Iodure de potassium..... | 2.0 g  |
| Iode métalloïde.....     | 1.0 g  |
| Eau distillée .....      | 300 ml |

**Alcool (éthanol)**

**Fuschine :**

|                       |        |
|-----------------------|--------|
| Fuschine basique..... | 1.0g   |
| Phénol.....           | 5.0 g  |
| Éthanol à 90° .....   | 10 ml  |
| Eau distillée .....   | 100 ml |

## *Résumé*

Le lait est un aliment important pour l'homme depuis la domestication de bétail et l'adoption d'une agriculture pastorale, le lait peut être transformé en divers aliments.

Cette étude visait à déterminer la prévalence des souches de levures, et des souches de staphylocoques et de Pseudomonas dans le lait cru de vache ainsi que tester leurs sensibilités aux antibiotiques.

Nous avons analysé 20 échantillons de différents endroits : Oum el Bouaghi, Ain Fakroun, Ain M'Lila, Ain Beida.

Le total de ces échantillons présente un pourcentage de 45% pour les levures, de 75% pour les Staphylocoques doré, de 40% pour les Staphylocoque blancs et de 25% pour les Pseudomonas ssp.

Les résultats de cette étude montrés que les souches présentent un taux de résistance assez inquiétant.

**Mots clés :** levure, Staphylocoques, lait cru de vache, l'antibiorésistance, Pseudomonas

## *Abstract*

Milk has been an important food for humans since the domestication of livestock and the adoption of pastoral agriculture, milk can be processed into various foods.

This study aimed to determine the prevalence of yeast, staphylococcal and pseudomonas strains in cow's milk and to test their susceptibility to antibiotics.

20 samples were analysed from different locations : Oum el Boughi, Ain Fakroun, Ain M'Lila, Ain Beida.

The total of these samples contains a percentage 45% by yeasts, 75% staphylococcus aureus, 40% white staphylococcus and 25% by pseudomonas ssp.

The results of this study showed that the strains have a rather worrying resistance rate.

**Key words:** yeast, Staphylococcus, raw cow's milk, antibiotic resistance, pseudomonas.

## **الملخص:**

الحليب غذاء هام للبشر منذ تدجين الماشية واعتماد الزراعة الرعوية ، ويمكن استغلال الحليب في أغذية مختلفة.

هدفت هذه الدراسة إلى تحديد مدى انتشار سلالات الخميرة والمكورات العنقودية والزائفة في حليب البقر ، واختبار مدى قابليتها للمضادات الحيوية.

تم تحليل عينة 20 من مواقع مختلفة: أم البواقي ، عين فكرون ، عين مليلة ، عين البيضاء.

مجموع هذه العينات يحتوي على نسبة 45% من الخمائر ، و 75% من المكورات العنقودية الذهبية ، و 40%

من المكورات العنقودية البيضاء ، و 25% من الزائفة.

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن السلالات لديها معدل مقاومة مقلق إلى حد ما.

**الكلمات المفتاحية:** الخميرة، المكورات العنقودية ، حليب البقر الخام ، مقاومة المضادات الحيوية، الزائفة.