



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2024

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

AMMAR Samah

DJERBOUA Chahrazed

Thème

**Etude de l'activité antibactérienne de *Spirulina platensis*
sur des souches bactériennes isolées de poulet de chair**

Soutenu le : 26/06/2024

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mme BOUTELDJA

MCA

Univ. de Bouira

Présidente

Mme MESSAD S

MCA

Univ. de Bouira

Promotrice

Mme DJENADI K

MCB

Univ. de Bouira

Examinatrice

Mme MECHOUB D

Doctorante

Univ.de Tizi ouzou

Co- promotrice

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant Mme " MESSAD ", pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené à bon port.

Nous adressons nos remerciements à Mme MECHOUB pour l'orientation, l'aide et son soutien au cours de la réalisation de ce mémoire

Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté "SNVST", pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nous adressons nos remerciements à toutes l'équipe de laboratoire d'analyse médical HADIOUCH SALEH Ain bessem

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mon cher père

A travers les hautes et les bas, tu as été mon inspirant et mon guide.

Ta force et ton amour m'ont soutenu à chaque étape de ma vie .Ce mémoire est dédié à toi, en reconnaissance de tout ce que tu m'as appris. Ta présence douce dans ma vie est un cadeau précieux .je t'aime

A ma chère mère

Ma source de lumière, celle qui m'a toujours montré le chemin avec douceur et détermination. Ton amour inconditionnel et ta patience infinie ont été toujours mes plus grands soutiens dans ma vie. Ce mémoire est dédié pour toi, en reconnaissance de tout ce que tu as fait pour moi. Merci pour ta présence aimante et ton influence positive.je t'aime

A ma chère sœur Amina

A travers les rires et les larmes, tu as été ma complice, ma confidente et ma meilleure amie. Ta présence joyeuse et ton soutien indéfectible ont éliminé les jours sombres. Ce mémoire est dédié pour toi, en reconnaissance de notre lien indestructible et ton impact positif sur ma vie .Merci d'être ma sœur, ma source de bonheur.

A mon cher frère Zakaria

Ta présence dans ma vie a été le plus beau cadeau qui remplit chaque moment avec la joie et l'amour. Ce mémoire est dédié pour toi, en reconnaissance de ton soutien et de tout ce que tu représentes pour moi .Merci d'être mon frère

A ma binôme Chahrazed, je suis reconnaissante d'avoir la chance de travailler avec toi et de t'avoir à mes côtés. Ta diligence, ta perspicacité et ton soutien ont été toujours une source d'inspiration

A tous mes sincères amis et ma famille sans exception pour leur soutien, amour et les souvenirs précieux .A chaque personne qui m'a aidé à atteindre ce succès.

Samah



Dédicaces

Je dédie ce travail

Au meilleur des papas Mohamed, tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux et honnête. Je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrai te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. J'implore Allah le tout puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A ma très chère maman Hadjira Hamidi Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple de la femme forte, combattante et courageuse. Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace en saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse ALLAH, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher binôme Samah et à toute sa famille . Je te suis très reconnaissante et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité et ton soutien.

A mes frères Aissa, Wassim et Amdjed Abderahim ma sœur Rofaid pour tout ce que vous représentez pour moi

Je dédie ma grande mère Fatima Brahimî Dieu repose son âme à mon grand père Aissa que dieu repose son âme. Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude pour ma famille et mes amis. Je n'oublierai jamais votre encouragement et votre soutien le long de mes études, je vous aime beaucoup.

Chahrazed

Résumé

Les poulets de chair sont des volailles élevés pour leur viande souvent associés à des infections bactériennes. Au cours de l'augmentation de la résistance de ces bactéries liées aux infections ; notre étude a pour objet de chercher une alternative au antibiotique. La présente étude a été effectuée sur 20 échantillons de poulet de chair. Tous les échantillons ont été dépistés pour *Staphylococcus spp*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli* et *Enterococcus spp*. L'identification microbiologique et biochimique révèle la présence de tous les germes recherchés avec une majorité d'*Escherichia coli* à 85%, et de *Staphylococcus aureus* à 50%. L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de la spiruline a été testée contre ces souches bactériennes en utilisant la méthode de diffusion des puits. *Staphylococcus aureus* était la plus sensible à l'extrait de *Spirulina platensis* avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 27mm. Tandis qu'*Escherichia coli* a montré des effets inhibiteurs minimes avec un diamètre d'inhibition maximal de 14mm. Par conséquent, *Spirulina platensis* peut être utile en tant qu'un agent antibactérien et dans divers applications et investigations ultérieurs.

المخلص

الفراريح هي دواجن تربي من أجل لحومها غالبا ما ترتبط بالعدوى البكتيرية. خلال الزيادة في مقاومة هذه البكتيريا المتعلقة بالعدوى ؛ تهدف دراستنا إلى البحث عن بديل للمضاد الحيوي. أجريت الدراسة الحالية على 20 عينة من الدجاج اللحم. تم اختبار جميع العينات للمكورات العنقودية النيابية ، السالمونيلا النيابية ، الإشريكية القولونية والمكورات المعوية النيابية. يكشف التعرف الميكروبيولوجي والكيميائي الحيوي عن وجود جميع الجراثيم المطلوبة مع غالبية الإشريكية القولونية بنسبة 85 ٪ ، والمكورات العنقودية الذهبية بنسبة 50٪. تم اختبار دراسة النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص الإيثانولي من سبيرولينا ضد هذه السلالات البكتيرية باستخدام طريقة نشر البئر. كانت المكورات العنقودية الذهبية هي الأكثر حساسية لمستخلص سبيرولينا بلاتينسيس مع مناطق تثبيط تصل إلى 27 مم ، بينما أظهرت الإشريكية القولونية الحد الأدنى من التأثيرات المثبطة مع أقصى قطر تثبيط يبلغ 14 مم. لذلك ، يمكن أن يكون سبيرولينا بلاتينسيس مفيدا كعامل مضاد للبكتيريا وفي العديد من التطبيقات والتحقيقات اللاحقة

Abstract

Broilers are poultry raised for their meat often associated with bacterial infections. During the increase in the resistance of these bacteria related to infections; our study aims to seek an alternative to the antibiotic. The present study was carried out on 20 broiler samples. All samples were tested for *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli* and *Enterococcus spp*. Microbiological and biochemical identification reveals the presence of all the germs sought with a majority of *Escherichia coli* at 85%, and *Staphylococcus aureus* at 50%. The study of the antibacterial activity of the ethanol extract of spirulina was tested against these bacterial strains using the well diffusion method. *Staphylococcus aureus* was the most sensitive to *Spirulina platensis* extract with inhibition zones of up to 27mm. While *Escherichia coli* showed minimal inhibitory effects with a maximum inhibition diameter of 14mm. Therefore, *Spirulina platensis* can be useful as an antibacterial agent and in various subsequent applications and investigations.

Liste des figures

Figure	page
Figure 01 : Anatomie interne de la poule.	4
Figure 02 : Anatomie de tube digestive de la poule .	4
Figure 03 : Diagramme de la production de viande de poulets de chair en Algérieentre 1980 et 2003.	5
Figure 04 : Vue d'ensemble des bactéries du microbiote intestinal couplé à leurs rôles.	6
Figure 05 : Infection colibacillaire de la grappe ovarienne.	8
Figure 06 : Nécrose du poulet due à <i>Enterococcus</i> .	11
Figure 07 : Aspect microscopique de la spiruline.	12
Figure 08 : Taxonomie de <i>Spirulina</i> .	13
Figure 09 : La répartition géographique de la spiruline.	14
Figure 10 : Composition chimique de la spiruline.	14
Figure 11 : Comparatif de la teneur en protéines dans différents aliments.	15
Figure 12 : Paquet de spiruline.	23
Figure 13 : Préparation de solution mère d'échantillon de fiente et d'intestin.	24
Figure 14 :Préparation des dilutions.	25
Figure 15 : Ensemencement par étalement.	25
Figure 16 : Quelque échantillon de foie utilisé.	26
Figure 17 : Enrichissement par sélénite cystéine.	26
Figure 18 : Echantillon de foie et les parties pectorales bien écrasées.	27
Figure 19 : Galerie biochimique des souches isolées.	30
Figure 20 :Préparation de la poudre de la spiruline.	31
Figure 21 :Processus de filtration et évaporation de l'extrait.	32
Figure 22 : schéma général de protocole de macération.	33
Figure 23 : <i>Escherichia coli</i> sur milieu GN et BCP.	35
Figure 24 : <i>Escherichia.coli</i> sur milieu mac conkey.	36
Figure 25 : <i>Escherichia coli</i> sur milieu Hektoen.	36
Figure 26 : Colonies des salmonelles sur milieu Hektoen.	37
Figure 27 : Colonies des salmonelles sur milieu Mac conkey.	37
Figure 28 : Des colonies pures du staphylocoque sur milieu Chapman.	38

Figure 29 : Colonies des entérocoques sur milieu BEA.	39
Figure 30 :Galerie API 20 d' <i>Escherichia.coli</i> après 24 d'incubation.	40
Figure 31 : Galerie API 20 de <i>Salmonella spp</i> après 24 d'incubation.	40
Figure 32 :Galerie API 20 de <i>Staphylococcus spp</i> après 24 d'incubation.	41
Figure 33 : Galerie API 20 d' <i>Enterococcus spp</i> après 24 d'incubation.	41
Figure 34 : Résultats d'antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i> .	42
Figure 35 : Résultats d'antibiogramme de <i>Salmonella spp</i> .	43
Figure 36 :Résultats d'antibiogramme de <i>Staphylococcus spp</i> .	44
Figure 37 :Résultats d'antibiogramme d' <i>Enterococcus</i> .	45
Figure 38 :Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre <i>Staphylococcus aureus</i> .	47
Figure 39 :Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre <i>Escherichia coli</i> .	47
Figure 40 : Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre <i>Salmonella spp</i> .	48
Figure 41 : Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre <i>Enterococcus spp</i> .	48
Figure 42 :Diagramme des résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez <i>Staphylococcus aureus</i> .	49
Figure 43 :Diagramme des résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez <i>Escherichia coli</i> .	50
Figure 44 :Diagramme des résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez <i>Salmonella spp</i> .	51
Figure 45 :Diagramme des résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez <i>Enterococcus spp</i> .	52

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 1 : Systématique de <i>Gallus gallusdomesticus</i> .	2
Tableau 02 : Symptômes généraux de colibacillose.	7
Tableau 03 :Symptômes généraux de salmonellose.	9
Tableau 04 : Symptômes généraux de Staphylococcie.	10
Tableau 05 :Symptômes généraux d'entérocoque.	11
Tableau 06 : Minéraux et oligo-éléments contenus dans la spiruline.	16
Tableau 07 :Composition de la spiruline en vitamines.	16
Tableau 08 : Liste des matériels non biologique utilisés pendant la manipulation.	22
Tableau 09 :Les antibiotiques utilisés et leur charge spécifique.	31
Tableau 10 : Résumé des résultats des tests d'identification.	39
Tableau 11 :Résultats de galerie biochimique d' <i>Escherichia. Coli</i> .	40
Tableau 12 : Résultats de galerie biochimique de <i>Salmonella spp.</i>	40
Tableau 13 : Résultats de la galerie biochimique de <i>Staphylococcus aureus</i> .	41
Tableau 14 : Résultats de la galerie biochimique d' <i>Enterococcus spp.</i>	41
Tableau 15 : Résultats d'antibiogramme d' <i>Escherichia.coli</i> .	43
Tableau 16 : Résultats d'antibiogramme de <i>Salmonella spp.</i>	44
Tableau 17 : Résultats d'antibiogramme de <i>Staphylococcus spp.</i>	45
Tableau 18 :Résultats d'antibiogramme d' <i>Enterococcus</i> .	46
Tableau 19 : intervalle de diamètre de zone d'inhibition pour chaque souche isolée.	48

Table des matières

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION	1
Chapitre 01 : Poulet de chair	2
1. Définition et Systématique du poulet de chair	2
2. Cycle de production du poulet de chair	2
3. Importance alimentaire de viande de poulet de chair	Error! Bookmark not defined.
4. Anatomie de la poule	3
5. Situation de la production de poulets de chair en Algérie	4
Chapitre 02 : Les microorganismes liés au poulet de chair	6
1. Bactéries couramment présentes chez poulet de chair	6
2. Les maladies bactériennes chez les poulets de chair	7
2.1. Colibacillose	7
2.2. Salmonellose	8
2.3. Infection staphylococcique	9
2.4. Infection à entérocoque	10
Chapitre 03 : La spiruline	5
1. Généralités sur la spiruline	12
1.1. Définition	12
1.2. Taxonomie	12
1.3. Répartition géographique	13
1.4. Composition de la spiruline	14
1.4.1. Les protéines	15
1.4.3. Les lipides	15
1.4.4. Les minéraux et oligo-éléments	15
1.4.5. Les vitamines	16
1.4.6. Enzymes	16
1.4.7. Les pigments	17
1.4.8. Les composés bioactifs	17
1.4.8.1. Les poly phénols	17
1.4.8.2. Acides phénols simples	17

2. Activités biologiques de la spiruline.....	17
2.1. Activité antibactérienne	17
2.2. Activité antioxydant	18
2.3. Activité antivirale	18
2.4. Activité anti-inflammatoire.....	18
3. Autres applications	18
3.1. Alimentation humaine.....	18
3.2. Alimentation animale.....	18
3.3. Cosmétique.....	19
<i>Chapitre 04 :Partie pratique.....</i>	<i>11</i>
Problématique et objectif	22
1. Matériel et méthodes.....	22
1.1. Matériel	22
1.1.1. Matériels de prélèvement et d'analyse.....	22
1.1.2. Les réactifs et les milieux de culture	23
1.1. 3. Matériel biologique.....	23
1.2. Méthodes	24
1.2.1. Echantillonnage	24
1.2.2. Isolement des souches.....	24
1.2.3. Identification des souches	28
1.2.4. Extraction des composés bioactifs par macération.....	31
1.2.5. Détermination de l'activité antibactérienne d'extrait sec	34
2. Résultats et discussion	35
2.1.1. Résultats d'isolement des souches.....	35
2.1.2. Résultats des tests d'identification.....	39
2.1.3. Résultats de l'activité antibactérienne d'extrait	46

CONCLUSION et PRESCREPTIVES 53

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXE

Introduction

La volaille est le sous-secteur agricole qui connaît la croissance la plus rapide, en particulier dans les pays en développement ; en fournissant une source importante de protéines d'origine animales (1). Cette évolution a été le résultat de révolution industrielle de la production en vertu des contributions de diverses études réalisées dans le cadre de sélection ; d'alimentation ; d'habitat, de prophylaxie et de technologie de produit final (2).

Cependant ; cette filière est confrontée à des défis majeurs ; notamment les maladies bactériennes qui sont souvent liées à l'accumulation des défaillances dans l'environnement du bâtiment d'élevage (3). Parmi les pathologies le plus fréquentes, on trouve la salmonellose ; la colibacillose et l'infection staphylococcique. Ces bactéries liées aux infections peuvent contaminer les produits avicoles causant des maladies liées à l'alimentation chez l'homme dans le monde entier.

Dans ce contexte ; la progression de la résistance aux antibiotiques de ces bactéries comporte un risque significatif envers la santé publique en augmentant les infections aviaires ainsi alimentaires notant *Staphylococcus aureus* isolé à partir d'échantillons de viande de poulet s'est récemment avéré résistant à divers antibiotiques tels que la pénicilline, la méthicilline, le chloramphénicol et l'érythromycine, ce qui représente un danger important pour la santé des consommateurs(4).

Afin de contrôler ce problème, l'exploration des cyanobactéries ayant une activité antimicrobienne a acquis une popularité ces dernières années. Des souches d'algues bleues sont capables d'excréter des substances ayant diverses propriétés physiologiques avec un large éventail d'activités biologiques (5). *Spirulina*, une microalgue bleu-vert qui offre une pertinence scientifique pour ces enjeux nutritionnelles et thérapeutiques, du fait de sa richesse en pigments, protéines, glucides, lipides, vitamines et minéraux(6)

L'objectif de notre étude consiste à examiner l'efficacité d'extrait de la spiruline sur les souches pathogènes provoquant des infections aviaires et est ce qu'elle peut être considérée comme une alternative ? D'abord la première partie de ce travail va s'attacher à effectuer une étude bibliographique sur le poulet de chair, ces différentes infections bactériennes et des généralités sur la spiruline. La deuxième partie présente une étude pratique d'isolement et d'identification sur les échantillons de poulet de chair avec une analyse de l'efficacité de l'extrait.

Chapitre 01 :

Poulet de chair

1. Définition et Systématique du poulet de chair

Le poulet de chair est fréquemment reconnu en tant qu'un des oiseaux domestiques les plus anciens appartenant à la famille des phasianidés de la sous-espèce *Gallus Gallus domesticus*.

Sa production assure actuellement plus de 86% des produits carnés d'origine aviaire (7)

La systématique de *Gallus Gallus domesticus* est démontrée dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Systématique de *Gallus Gallus domesticus* (8).

Règne	Animal
Sous-règne	Métazoaire
Embranchement	Chordés
Sous –embranchement	Vertébrés
Classe	Oiseaux
Ordre	Galliformes
Famille	Phasianidés
Genre	<i>Gallus</i>
Espèce	<i>Gallus gallus</i>

2. Cycle de production du poulet de chair

La production du poulet de chair est structurée en trois phases distinctes :

1.1. Démarrage : Cette étape dure environ 20 jours. Les aliments doivent contenir une teneur en protéines brutes allant jusqu'à 23 %, ce qui constitue une période importante, notamment pour le développement osseux (9).

CHAPITRE I : Poulet de chair

2.2. Croissance : Elle dure environ 45 jours, c'est la phase de dépôt des muscles pendant laquelle les oiseaux ont accès au parcours (9).

2.3. Finition : C'est à cette période que le gras intramusculaire, qui donnera la flaveur à la viande se forme (10).

3. Importance alimentaire de la viande du poulet de chair

_ **Fournisseur de protéines :** Les protéines jouent de nombreux rôles dans l'organisme et sont donc essentielles à notre santé. Et pour cause, ils contribuent au processus de renouvellement des tissus cutanés et osseux, apportent de l'énergie et favorisent la formation d'enzymes digestives et autres hormones(11).

_ **Faiblement calorique:** Le poulet, moins gras que le bœuf, est une viande maigre appréciée. Effectivement, elle possède peu de lipides, à l'exception de sa peau qui peut être retirée pour diminuer l'apport en lipides(11).

_ **Riche en vitamines :** Avec ses vitamines du groupe B, qui jouent un rôle essentiel dans le métabolisme des lipides, des glucides et des protéines, le poulet a un effet bénéfique sur les systèmes nerveux et favorise le bon fonctionnement global du corps humaine et peut réduire les taux d'homocystéine dans le sang donc bon pour le cœur (11)

- **Fournisseur d'oligo-éléments :** Sont vitaux pour le maintien et le bon fonctionnement du corps humains (11).

4. Anatomie de la poule

L'appareil digestif de la poule est composé d'un bec, d'une bouche sans dents, d'un œsophage, d'un jabot, d'un gésier, d'estomacs, d'intestin, d'un cloaque et d'un anus en plus du foie et pancréas (figures 01 et 02) (12).

CHAPITRE I : Poulet de chair

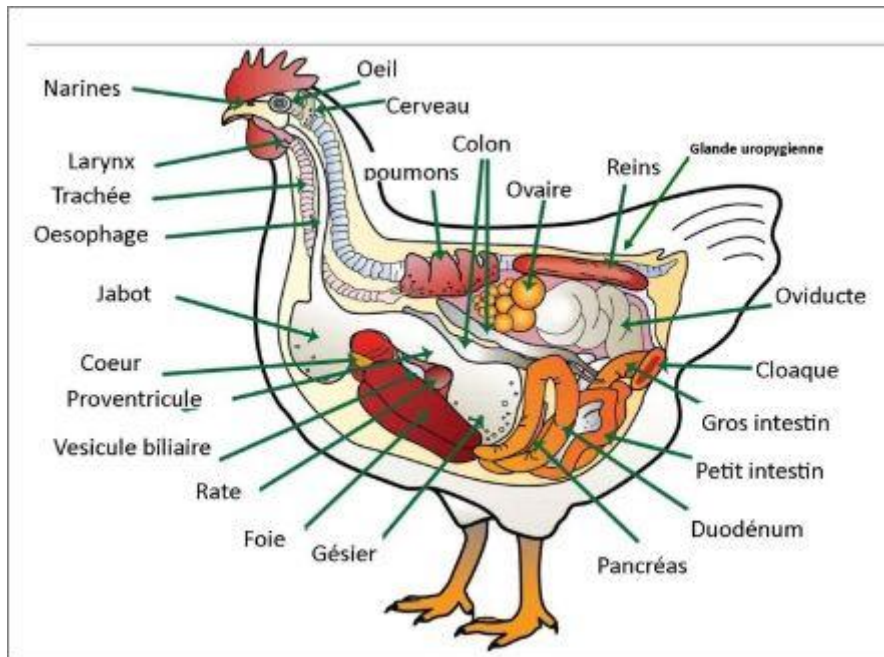


Figure 01 : Anatomie interne de la poule(13).

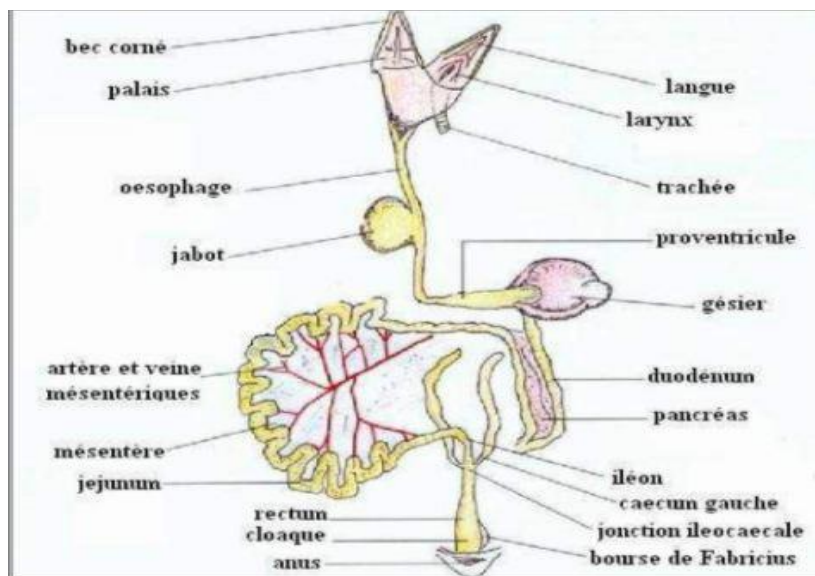


Figure 02 : Anatomie du tube digestif de la poule (12).

5.Situation de la production de poulets de chair en Algérie

Une concentration relativement significative de près de 70% se localise dans 13 wilayas seulement, dont 5 à l'Est du pays (Sétif, Bordj Bou Arreridj, Oum el Bouagui, Mila, Batna), 6 dans la région centre (Béjaïa, Tizi-Ouzou, Bouira, Boumerdés, Alger, Blida) et 2 à l'Ouest (Oran, Tlemcen) (14).

Tizi-Ouzou est la wilaya avec le plus vaste nombre d'élevages de poulets de chair au niveau national, avec 1229 unités, suivie de Sétif avec 1142 unités (14).

CHAPITRE I : Poulet de chair

Sur le plan juridique, le secteur privé est actuellement le plus prépondérant dans l'élevage du poulet de chair. Cette situation est due à la politique de développement mise en place par l'État depuis vingt ans et qui vise à assurer l'autosuffisance alimentaire en protéines animales. Notre pays a choisi d'adopter un modèle d'élevage intensif, qui repose sur la technologie moderne et une production organisée(15).

L'évolution de cette production est représentée dans la **figure 03**.

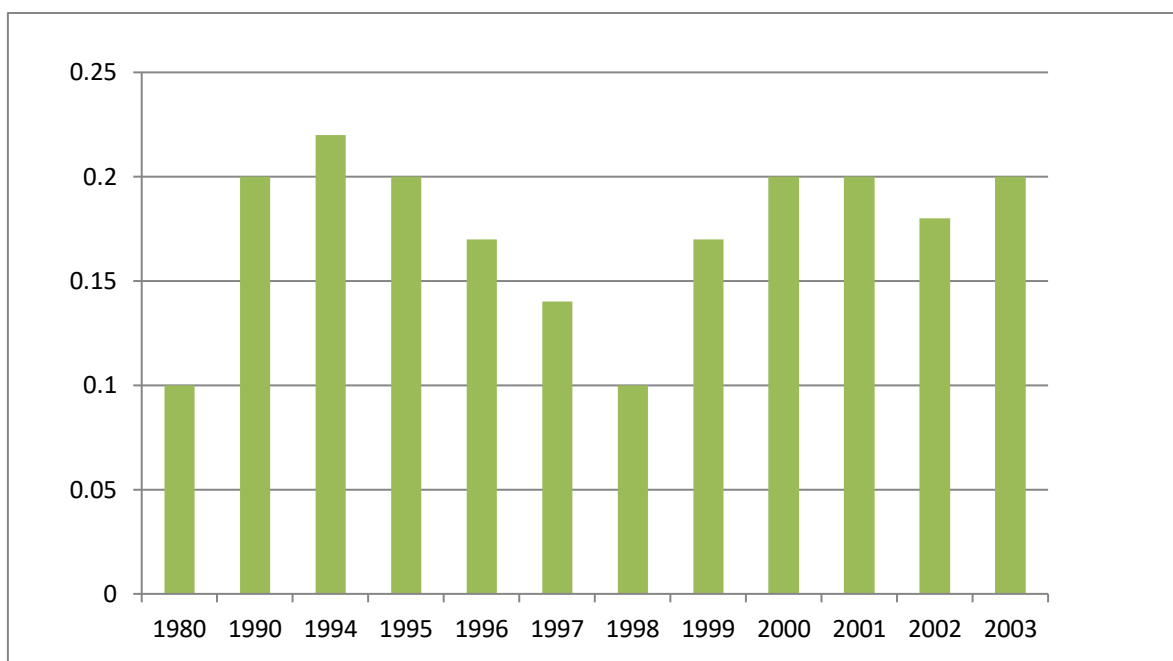


Figure 03 : Représentation de la variation de la production de la viande de poulets de chair en Algérie (1980-2003)(**16**).

Chapitre 02 :

Les microorganismes liés au poulet de chair

1. Bactéries couramment présentes chez poulet de chair

Le terme microflore désigne les différentes populations de bactéries dites bénéfiques présentes naturellement dans l'intestin (17), il peut jouer un rôle important dans la physiologie de son hôte tel que le fonctionnement adéquat de l'organisme, la progressivité de la muqueuse intestinale, l'assemblage des vitamines, détérioration de certains composés et protection contre les bactéries potentiellement pathogènes provenant de l'alimentation.

Le microbiote intestinal indique une variété microbienne très notable en accord à son environnement, du niveau de stress et de son régime alimentaire entre 1 et 20 jours (18). Il existe des microorganismes majeurs présentant des concentrations supérieures à 10^6 UFC/g comme les *Lactobacilles*, d'autres mineures avec (10^5 à 10^3 UFC/g de contenu) comprenant les *Escherichiacoli*, les *Entérocoques*. Un dernier groupes des résiduelles avec des concentrations inférieures à 10^3 UFC/g, comportant *Proteus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* (17).

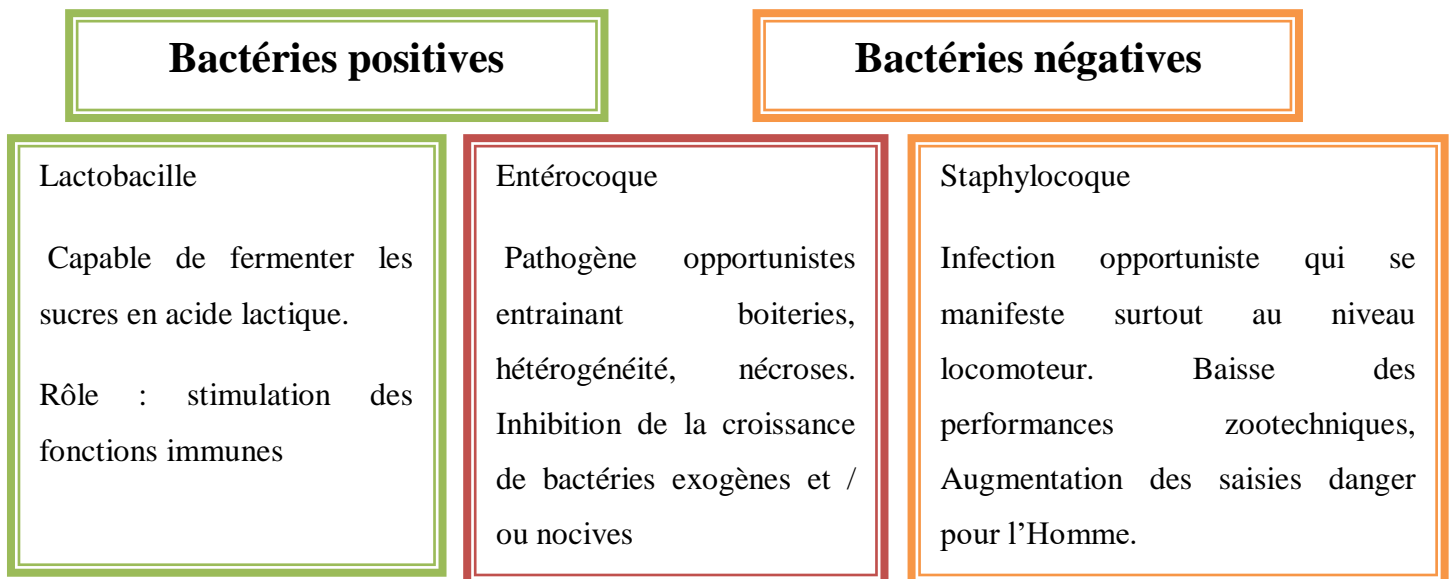


Figure 04: Vue d'ensemble des bactéries du microbiote intestinal couplé à leurs rôles (19).

D'autres espèces de bactéries potentiellement présentes dans le microbiote intestinal peuvent provoquer des actions néfastes comme *E. coli* (*Escherichia coli*), qui peut être potentiellement pathogène due à de la perturbation de l'équilibre de la flore intestinale sous l'effet d'une prise d'antibiotiques ou d'un stress, et peut conduire à diverses pathologies comme des diarrhées, des inflammations ou des infections (17).

CHAPITRE II : Les microorganismes liés au poulet de chair

2. Les maladies bactériennes chez les poulets de chair

Habituellement associé à l'accumulation de détériorations dans l'environnement du poulailler comme l'humidité, une mauvaise désinfection, une mauvaise ventilation.

2.1. Colibacillose

L'infection à *E.coli* est la plus couramment recensée chez la volaille, elle est due à une bactérie à Gram négatif de la famille des entérobactéries (20). La voie d'accès principale de cette souche potentiellement pathogène est le tractus respiratoire. La manifestation et l'intensité de cette infection dépend plusieurs paramètres dont l'âge et la race (21). Le tableau suivant représente les symptômes principaux de colibacillose

Le tableau suivant représente les symptômes principaux de colibacillose

Tableau 02 : Symptômes généraux de la colibacillose (22)

	Colibacillose
Age sensible	6 à 10 semaines
Signes cliniques	<ul style="list-style-type: none">- Evaluation suraiguë ;- Endolorisse et anorexie ;- Râle, toux, éternuement et jetage ;- Sinusite et larmoiement ;- Crête pale et atrophiée.
Principales lésions à l'autopsie	<ul style="list-style-type: none">- aérosacculite ;- péri hépatite) ;- péricardite ;- péritonite ;- salpingite.



Figure 05 : Infection colibacillaire de la grappe ovarienne (23).

2.2. Salmonellose

La salmonellose est une maladie contagieuse causée par la bactérie à gram négatif de la famille des entérobactéries (24). On distingue deux sortes de salmonelle : la typhose pullorose et paratyphus (25). La mortalité survient habituellement au cours du début de la vie, et une multiplication accrue dans le sang pouvant induire la mort. Les volailles se contaminent soit à partir des ovaires, conduits à la production d'œufs contaminés, ou par des vecteurs inanimés (tout objet contaminé en contact avec les volailles) ou les insectes et les rongeurs (26). Les symptômes de cette maladie sont représentés dans le tableau suivant

Tableau 03 : Symptômes généraux de salmonellose (26).

	Salmonellose
Age sensible	1 à 3 semaines
Signes cliniques	Chez les jeunes : <ul style="list-style-type: none">- Anorexie et faiblesse ;- Diarrhée blanchâtre ;- Retard de croissance. Chez les adultes : <ul style="list-style-type: none">- Anorexie et diarrhée ;- Déplacement difficile ;- Plumage ébouriffé ; Crête pâle.

CHAPITRE II : Les microorganismes liés au poulet de chair

Principales lésion à l'autopsie	<ul style="list-style-type: none">- Nécropsie (des zones nécrotiques au niveau de certains organes comme le foie et le cœur) ;- Tumeurs dans la région cardiaque ;- Diminution de la taille des ovaires.
---------------------------------	--

2.3. Infection à staphylocoques

L'infection staphylococcique est une pathologie sanguine fréquente chez les volailles, due à la bactérie *Staphylococcus aureus* (27), bactérie à Gram positif, facultativement anaérobique(28).La contamination de l'environnement et l'hygiène dans les couvoirs joueraient un rôle important dans l'épidémiologie de cette infection (29).Pour confirmer l'infection, il est impératif de trouver des staphylocoques de la majorité des zones touchées (30).Le tableau suivant repret les symptômes principaux d'infection staphylococcique.

Tableau 04:Symptômes généraux de Staphylococcie (27).

Infection staphylococcique	
Signes cliniques	<ul style="list-style-type: none">- Les plumes sont hérissées ;- La peau est blanchatre ;- Asthénie générale ;- Autres manifestations de l'arbre respiratoire et des articulations pouvant se terminer par la mort.
Principales lésions à l'autopsie	<ul style="list-style-type: none">- présentant un écoulement jaunâtre crémeux sac vitellin;- inflammation de l'ombilique ;- gonflement des articulations ;- inflammation nécrotique de la peau ;- gonflement et exudation des membres.

CHAPITRE II : Les microorganismes liés au poulet de chair

2.4. Infection à entérocoque

Enterococcus est une bactérie lactique anaérobie facultative, immobile à gram positif (31) commensale de la flore intestinale (32), pourrait être le déclencheur des troubles du système locomoteur chez le poulet de chair et les reproducteurs de poulet de chair (33)

En élevage, les pathologies engendrées par les entérocoques entraînent des cas de septicémie ou de déshydratation liée à l'immobilité chez les animaux atteints. Cela entraîne une augmentation de la mortalité et l'hétérogénéité des lots concernés, voire de la saisie à l'abattoir (34). Les principaux symptômes de cette infection sont résumés dans le tableau suivant

Tableau 05: Symptômes généraux d'entérocoque (35) (36)

	Entérocoque
Age sensible	7 à 14 jours
Signes cliniques	<ul style="list-style-type: none">- Boiteries évoluant vers une paralysie ;- Troubles du système nerveux central ;- Hypertension artérielle pulmonaire ;- Retard de croissance.
Principales lésions à l'autopsie	<ul style="list-style-type: none">- Inflammations de plusieurs zones ; péricarde, articulations, os (vertèbres et os longs).



Figure 06 : Nécrose du poulet due à *Enterococcus* (37).

Chapitre 03 :

La spiruline

CHAPITRE III : La spiruline

1. Généralités sur la spiruline

1.1. Définition

La spiruline ou algue a été répertoriée comme une cyanobactérie en 1974 et comme faisant partie de groupe des cyanophycées ou algues bleues de type procaryote. Ces cyanobactéries appartiennent à l'une des plus ancienne formes sur terre et disposent des capacités de production d'oxygène et de photosynthèse grâce à trois pigments : la phycocyanine, la chlorophylle et caroténoïdes (38).

Elle dispose d'une paroi cellulaire dépourvu de cellulose, et capable de photosynthèse, elle contient de la chlorophylle (végétal)et la capacité d'échange de l'information génétique (bactéries) (38).



Figure 07:Aspect microscopique de la spiruline (39).

1.2. Taxonomie

Elle a été initialement considérée comme une algue, une dénomination finale en tant que cyanobactérie a été adoptée et acceptée par la suite pour figurer dans le «Bergey'sManuel of DeterminativeBacteriology» (6) (Bergey's Manuel 1994)

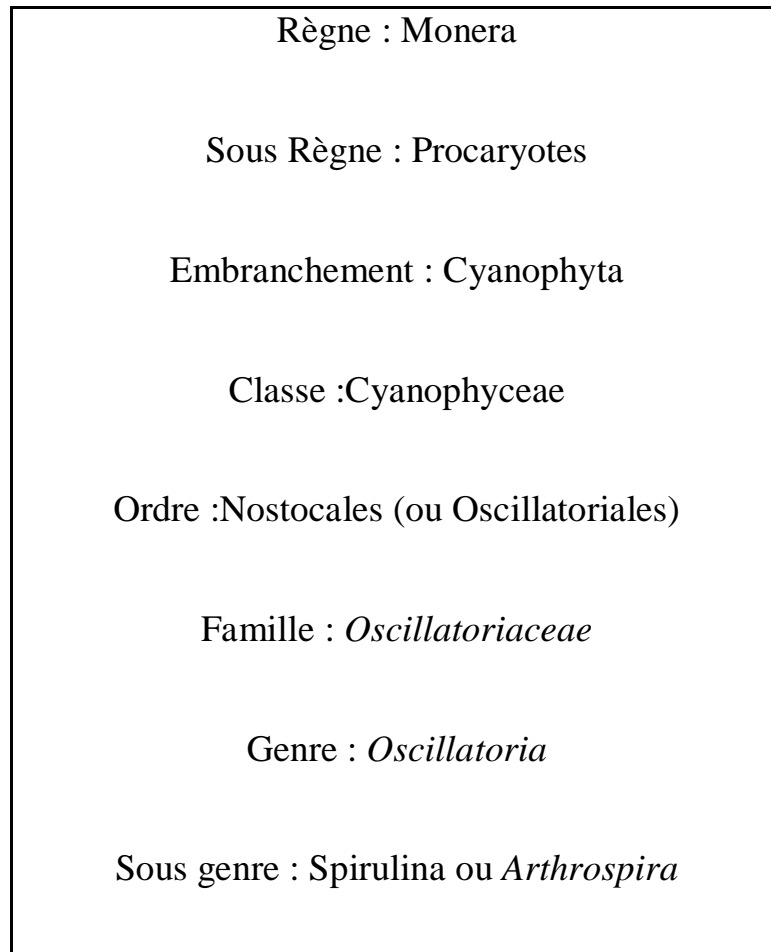


Figure 08 : Taxonomie de *Spirulina*(40).

1.3.Répartition géographique

La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés (40) Elle s'observe plus communément dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins des régions tropicales et semi tropicales (6). On la retrouve ainsi dans en Afrique (Algérie, Tchad), en Amérique latine (Pérou, Mexique), et en Asie du sud (Inde, Chine). (41).



Figure 09:Répartition géographique de la spiruline (41).

1.4. Composition de la spiruline

La composition de la spiruline varie en fonction des conditions de culture, la période de récolte et l'origine géographique. Elle est aussi affectée par les processus de récolte, de séchage, de broyage, d'emballage et même par le taux d'ensoleillement (42). La spiruline comprend dans sa composition entre 60 et 70% de protéines, 15% de glucides, 6% de lipides, 7% de minéraux et de 3 à 6% d'eau (43).

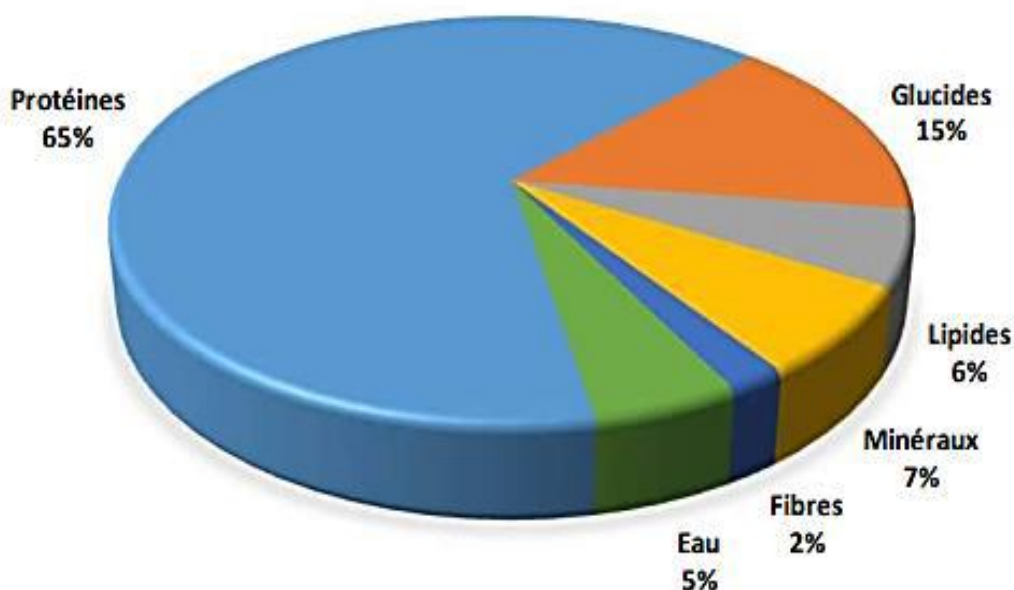


Figure 10 : Composition chimique de la spiruline (44).

CHAPITRE III : La spiruline

1.4.1. Les protéines

En termes de qualité, la protéine spiruline est complète (contient tous les acides aminés essentiels) (45) (46), dont deux spécifiques à quelques protéines (la pyrrolysine et la sélénocystéine). Elles sont quasiment bio-assimilables, ce qui signifie que le corps peut les utiliser presque entièrement (39). La teneur en protéines de la spiruline est élevée avec des variations de 10 à 15% selon le moment de la récolte, et est proportionnelle à la luminosité (6). Une étude comparative de la teneur en protéines représentée dans la (figure 11) montre la richesse de la spiruline par rapport d'autres aliments.



Figure 11 : Comparatif de la teneur en protéines dans différents aliments (47)

1.4.2. Les glucides

Les glucides contribuent à hauteur de 15 à 25% de la composition de la spiruline, ce qui se traduit par un apport estimé entre 0,75 à 1,25 grammes de glucides par portion de 5 grammes de spiruline (48). Majoritairement fournis sous forme de glycogène, favorisant ainsi une conversion rapide de la spiruline en énergie par l'organisme (43)(44)

1.4.3. Les lipides

La composition en lipides totaux se distingue par un équilibre favorable entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés de la série oméga 6(6). Certains de ces lipides peuvent potentiellement exhiber des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes (49).

1.4.4. Les minéraux et oligo-éléments

Les métaux ferreux comme le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium sont les minéraux et oligo-éléments les plus importants présents dans la spiruline (43). Concernant le fer, il est 2 à 3 fois mieux assimilé que celui des légumes ou de la viande. (6).

CHAPITRE III : La spiruline

Tableau 06 : Minéraux et oligo-éléments contenus dans la spiruline (50).

Elément	Qualités (mg/kg de biomasse sèche)
Cr	11.3 à 14.2
Fe	900 à 1176
Zn	554 à 592
Mn	21 à 375
Ca	4320
Cl	4890
K	9000
Mg	670 à 2700
Na	4500 à 235000
P	6700 à 9000

1.4.5. Les vitamines

La spiruline est une algue vitaminée, elle est la deuxième source de vitamine B1 derrière la levure de bière, elle contient une concentration relativement élevée de provitamine A, vitamine B 12 et β -carotène qui représente 40% à 80 % des caroténoïdes(51).

La composition en vitamines de cette riche algue est représenté dans le tableau suivant

Tableau 07 : Composition de la spiruline en vitamines (52).

Vitamine	Moyenne (mg/kg)	vitamine	Moyenne (mg/kg)
Biotine	0.4	Tocophérol	190
Cyan cobalamine B12	0.4	β -carotène pro-A	1700
Inositol B6	350	Acide ascorbique	90
Pyridoxine B6	3	Acide folique	0.5
Riboflavine B2	40	Acide nicotinique (PP) (B3)	118
Thianine B1	55	σ -ca-pantothénate	11

1.4.6. Enzymes

La spiruline renferme une grande quantité de SOD (superoxyde dismutase) (entre 1000 et 4000 UI/g), une enzyme antioxydant puissante qui joue un rôle essentiel dans le système endogène de lutte contre le stress oxydatif. La SOD est extrêmement bio-disponible grâce à la membrane de la spiruline qui ne contient pas de cellulose(41).

CHAPITRE III : La spiruline

1.4.7. Les pigments

La composition pigmentaire de la spiruline varie d'une culture à l'autre. La spiruline contient de nombreux pigments : la chlorophylle (pigment vert), les caroténoïdes (pigments jaune-orange) et la phycocyanine (pigment bleu)(53).

1.4.8. Les composés bioactifs

1.4.8.1. Les poly phénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires produits par les plantes, les micros algues et les macroalgues. Ils sont souvent synthétisés pour protéger contre les rayons UV et les agents pathogènes (54).

1.4.8.2. Acides phénols simples

Les acides phénoliques naturels ont deux charpentes carbonées distinctes, qui existent uniquement sous forme d'acides hydrox benzoïque et hydrox cinnamique, sous forme conjuguée ou libre (55).

1.4.8.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont un squelette de base de 15 atomes de carbone, constitué de deux cycles phényle, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure C6-C3-C6)(56). Ils sont connus pour contenir un large éventail d'activités chimique et biologique (57) (58) (59)(60)(61) .

1.4.8.4. Tanins

Les tannins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, avec en outre les propriétés habituelles des phénols, à savoir la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines. Ils ont de grandes capacités antioxydants dues à leur noyau phénol. (62) (61).

2. Activités biologiques de la spiruline

En plus de sa valeur nutritive élevée, la spiruline présente de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne, antidiabétique et obésité et anti-toxicité (63).

2.1. Activité antibactérienne

Les extraits aqueux de spiruline présentent une activité antibactérienne soutenue par les ingrédients actifs, composés phénoliques, flavonoïdes, stéroïdes et terpènes présents dans la culture de spiruline. Leur quantité dans un échantillon varie en fonction de la méthode de culture et d'extraction. Plusieurs études ont montré que la spiruline a la capacité d'inhiber les

CHAPITRE III : La spiruline

bactéries Gram-négatives et Gram-positives. *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* sont principalement inhibés, tandis que les bactéries Gram-négatives sont inhibées dans une moindre mesure(64)

2.2. Activité antioxydante

Certains vitamines et minéraux, la phycocyanine, la bêta-carotène, les poly phénols et la super oxyde dismutase sont les principaux extraits qui seraient liées à ce type d'activité, et réduisent d'une manière considérable l'effet oxydatif (6).

2.3. Activité antivirale

La présence de bêta carotène et de cobalamine et d'autres vitamines du groupe B dans la spiruline pourrait contribuer efficacement pour combattre les particules virales par divers mécanismes incluant des polysaccharides de surface (65).

2.4. Activité anti-inflammatoire

Une activité anti-inflammatoire et stimulatrice du système immunitaire est attribuée à la composition en protéines et oméga3 précurseur des prostaglandines ayant un grand intérêt biologique (40) (6).

3. Autres applications

3.1. Alimentation humaine

De part sa bonne assimilabilité et sa composition variées, la spiruline peut avoir plusieurs apports ; le traitement de la malnutrition et des carences chez les bébés, enfants et adolescents, permet aussi une bonne mise en forme chez les personnes faisant des efforts, considérée comme une bonne source d'acide folique et cobalamine donc recommandée pendant la grossesse, et précédant le part (66)(67) (68).

3.2. Alimentation animale

La spiruline aurait un effet sur le système immunitaire le l'animal lui permettant de mieux se défendre contre les affections, et contribue à une meilleure forme de l'animal, que ce soit ceux de compagnie ou de rente (69).

CHAPITRE III : La spiruline

3.3. Cosmétique

Au vu de sa composition naturelle, la spiruline en application externe favorise la pousse des cheveux. Elle est d'ailleurs retrouvée dans la composition de certains shampooings et certains traitements (70).

Des cures de quatre semaines peuvent être nécessaires. Utilisée en crème pour le visage, les propriétés antioxydants de la spiruline permettent de rendre la peau plus tonique, en détoxifiant la peau du visage et en limitant le vieillissement cutané. Elle contribuerait également à la bonne santé des ongles, favorisant la synthèse de kératine (71).

La spiruline, riche en bêta-carotène, peut s'avérer utile pour préparer la peau au soleil. Certaines études, réalisées sur des souris atteintes de tumeurs induites par les UVB, montrent que la spiruline a un effet protecteur contre les rayonnements de ces rayons UVB ainsi que contre l'induction et le développement de ces soi-disant tumeurs (72).

Chapitre 04 :
Partie pratique

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

Problématique et objectif

L'objectif de notre étude consiste à examiner l'efficacité de l'extrait de la spiruline et dans quelle mesure il peut être utilisé comme une alternative antibactérienne au cours de l'augmentation de la résistance des antibiotiques.

Ce travail a été réalisé dans deux lieux : le laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université d'AKLI MOHANED OULHADJ et le laboratoire de microbiologie de polyclinique HADYOCH SALEH, Ain bessem, à partir du 06/02/2024 au 15/03/2024.

Les buts de ce travail ont été :

- Isoler et identifier des souches potentiellement pathogènes à partir de poulets de chair.
- Obtenir un extrait de la spiruline.
- Appliquer l'extrait éthanoïque de la spiruline sur les souches isolées et déterminer son activité antibactérienne.

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matériels de prélèvement et d'analyse

Le tableau 09 regroupe le matériel utilisé au cours des manipulations.

Tableau 09 : Liste du matériel non biologique utilisé

Matériels de prélèvements	Matériels d'analyse
<ul style="list-style-type: none">- Ecouvillons- Pots en plastique stériles	<ul style="list-style-type: none">- Tubes à essais / Portoir;- Boîtes de pétri / Boîtes de pétri en verre ;- Balance / mortier / Entonnoir / Autoclave / bec bunsen ;- Etuve / Etuve ventilée / Bain marie / Microscope optique ;- Plaque chauffante agitatrice ;- Becher / Erlenmeyers de 1L / Eprouvettes de 1L ;- Spatule / Pipettes pasteur / micropipettes ;- Eppendorf / Cônes de pipette / gants.

1.1.2. Les réactifs et les milieux de culture

- Ethanol ;
- Solution de fuchsine ; Solution de lugol ;Violet de gentiane ;
- Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ;
- Solution saline ;
- Huile à immersion ;
- Milieu BHIB ;
- Milieu BEA ;
- Milieu Muller Hinton ;
- Milieu Chapman ;
- Milieu BCP ;
- Milieu MacConkey ;
- Milieu Hektoen ;
- Gélose nutritive ;
- Bouillon nutritif ;
- Eau péptonée tamponnée ;
- Galerie AP120 ;
- Réactif de kovacs ; réactif de vogesproskauer (VP1 / VP2) ; réactif de TDA.

1.1. 3. Matériel biologique

Echantillon

⇒ Les sachets de 100g de spiruline « *Spirulina platensis* » ont été achetés auprès de la ferme d'ALKIRAM, BISKRA.



Figure 12 : Paquet de spiruline.

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

⇒ 20 échantillons issus de poulets de chairs ont été collectés de manière aléatoire, chez 02 vétérinaires de la région d'AIN BESSEM.

1.2. Méthodes

1.2.1. Echantillonnage

En respectant les règles d'asepsie pour éviter toute contamination, les prélèvements des poulets de chair sont été effectués au niveau du laboratoire vétérinaire et transportés immédiatement vers le laboratoire d'analyses dans des pots en plastique stériles. En tout, les prélèvements ont été constitués de : 20 échantillons des fientes, 20 de foies, 20 d'intestins et 20 de viandes. Certains prélèvements ont été effectués par écouvillonnage sur la zone cloacale et mis dans du bouillon nutritif pendant 24h à 37°C.

1.2.2. Isolement des souches

1) La recherche d'*Escherichia .coli*

L'isolement de la souche est réalisé selon le protocole préconisé par LIVERLLI (73). Avant les étapes bactériologiques, la paillasse est désinfectée et le bec bunsen est allumé.

1g de fiente a été ajoutée à l'aide d'une pince stérile à un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. La solution a été bien homogénéisée pour ensuite effectuer des dilutions décimales.

Avec une pince stérile ; 1g d'intestin a été ajoutée à un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile ; le mélange a été bien homogénéisée.

Par la suite, on a préparé 4 tubes contenant 9 ml d'eau physiologique stérile pour chaque échantillon pour les dilutions 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} respectivement.

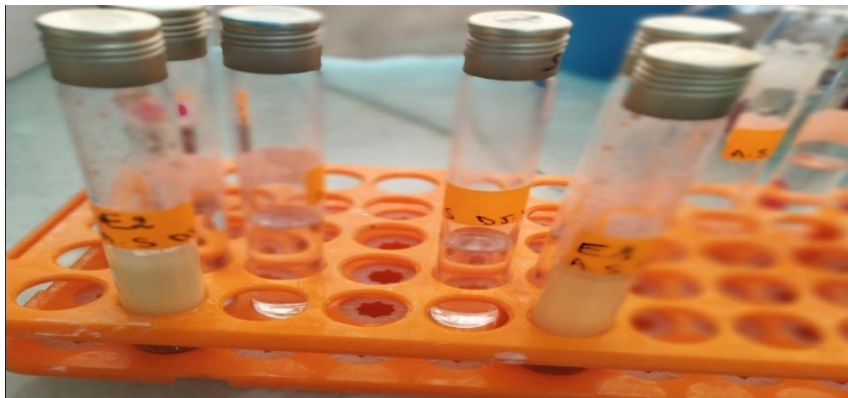


Figure 13 : Préparation de solution mère d'échantillon de fiente et d'intestin.

Préparation des dilutions

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

On a transféré aseptiquement 1 ml de la solution mère à l'aide d'une pipette stérile dans 9ml de diluant pour obtenir une dilution au 1/10. Puis, à partir de cette dernière on a prélevé 1ml avec une nouvelle pipette stérile dans un autre tube de diluant, afin d'avoir une dilution au 1/100. Ces étapes sont répétées jusqu'à obtenir une dilution de 10^{-4} (**Figure 14**).

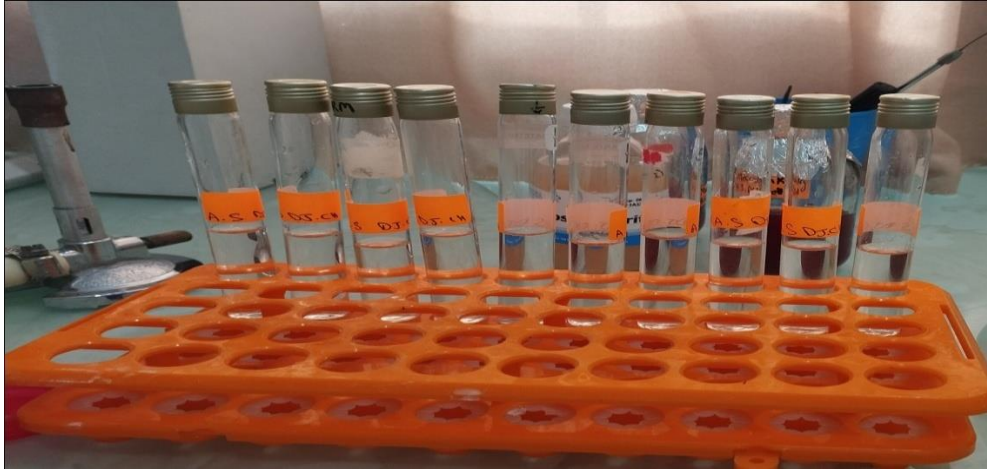


Figure 14 : Préparation des dilutions.

Mise en culture

50 μ l de la suspension préparée a été déposée sur des boîtes de pétri contenant différents milieux de culture (gélose nutritive, milieu BCP ; milieu mac conkey). Avec un râteau constitué à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, la goutte a été étalée. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h (**Figure 15**).

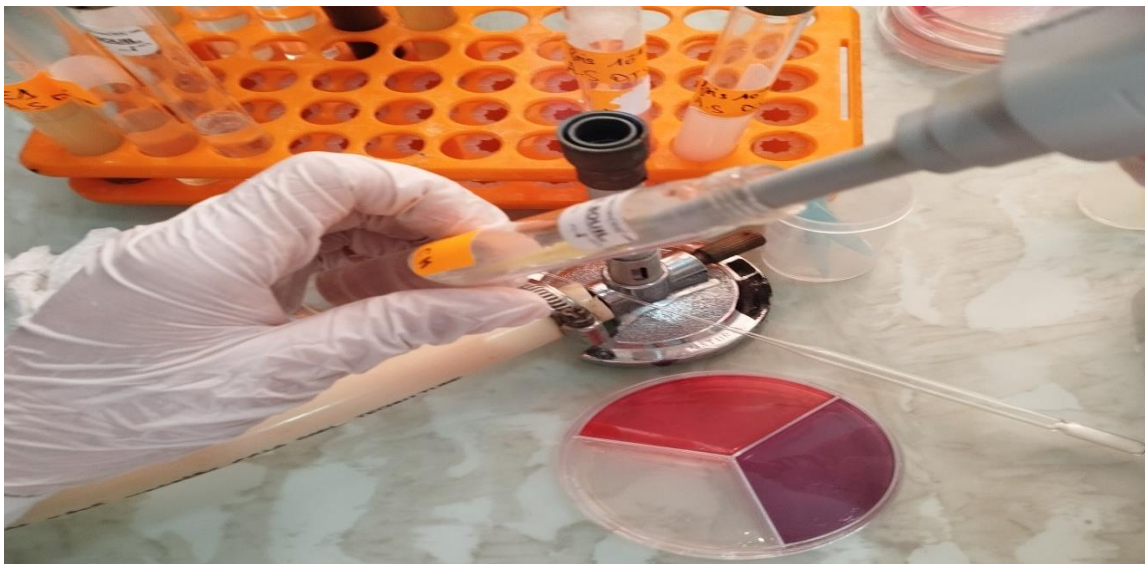


Figure 15 : Ensemencement par étalement.

- Puis une purification des souches obtenues est réalisée par un repiquage sur le même milieu que celui du premier ensemencement.

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

- L'incubation est faite à 37°C pendant 24 h.

2) Recherche des *salmonelles*

Pré enrichissement

Le foie prélevé a été fragmenté en petit morceaux à l'aide d'une pince et de ciseaux stériles. Ces morceaux ont été introduits dans des tubes contenant 9ml d'eau peptonée et incubés à 37°C pendant 24 h.

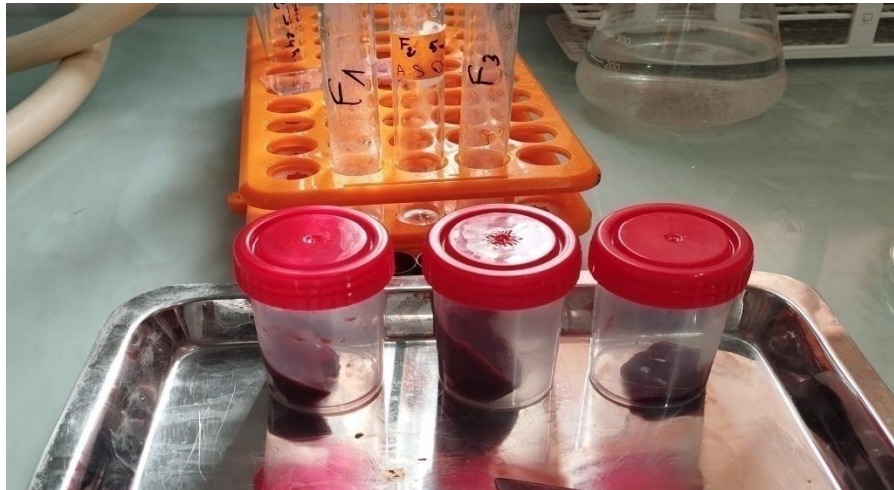


Figure 16 : Echantillons de foie

Enrichissement sélectif

1ml de chaque tube pré-enrichi a été transféré dans des tubes de sélénite cystéine et homogénéisé puis incubé à 37 °C pendant 24 h.



Figure 17 : Enrichissement sélectif au sélénite cystéine

Isolement

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

L'isolement est effectué par la technique d'épuisement ; une goutte de mélange enrichi est ensemencée à l'aide de l'anse de platine stérile sur milieu Hektoen. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h.

Purification

Les colonies vertes avec ou sans centre noire (des colonies caractéristiques culturelle des salmonelles) ont été purifiées sur milieu Hektoen à l'aide d'une anse stérile pour l'obtention de cultures pures.

3) Recherche de staphylocoque

Sur une paillassette désinfectée et devant le bec, 1g de chaque échantillon de foie et la partie pectorale ont été déposés dans des sacs de stomacher stériles contenant 9ml d'eau physiologique. Les deux échantillons ont été broyés et homogénéisés.



Figure 18 : Echantillons de foie et des parties pectorales broyés

Des dilutions ont été effectuées par la même méthode précédemment décrite.

Les échantillons ont été ensemencés par méthode d'étalement par un râteau stérile sur le milieu sélectif, Chapman. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h.

4) Recherche des entérocoques

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

A l'aide de méthode d'écouvillonnage au niveau du sphincter anal, l'écouvillon est introduit suivi de mouvement de rotation, par la suite cet écouvillon est mis immédiatement dans le bouillon nutritif avec une concentration de 6.5% de Na Cl, qui favorise le développement des entérocoques. Une incubation a été réalisée à une température de 45°C pendant 24 h.

Les tubes enrichis ont étéensemencés sur les boites contenant le milieu sélectif BEA contenant l'azoture de sodium et la bile de bœuf qui inhibe les bactéries à gram négatif par la méthode des stries. Les boites ont été incubées à 37 °C pendant 24h.

Purification

Sur le même milieu BEA, une purification est réalisée à partir des boites représentant des résultats positifs jusqu'à l'obtention de souches pures.

1.2.3. Identification des souches

1. Test de catalase

L'enzyme catalase sert à neutraliser les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène. La catalase accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et oxygène.

A l'aide d'une pipette pasteur stérile et devant le bec, la culture a été déposée sur une lame propre contenant une goutte de H₂O₂. Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène)(74).

2. Test oxydase

Test oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles gram négatif, le test est basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire, et mettre en évidence la capacité de bactérie à oxyder la forme réduite incolore de N-méthyle de paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinone rose violacées.

Sur un disque d'oxydase imprégné d'une goutte d'eau distillée stérile, on dépose une colonie pure, l'oxydase positive manifeste par coloration violette au bout de 30 secondes (75).

3. Coloration de Gram

Principe

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

Il s'agit d'une technique de coloration qui met en lumière la structure de la paroi bactérienne, permettant ainsi de distinguer deux groupes de bactéries. Les bactéries à Gram positif conservent la coloration violette du violet de gentiane, tandis que les bactéries à Gram négatif peuvent être décolorées par l'alcool avant d'être colorées en rose avec la fuch sine. (76).

Méthode

Une colonie a été ajoutée et étalée sur une lame en effectuant la fixation d'un frottis fixé avec une goutte d'eau distillée à l'aide d'une anse stérile, puis fixée par chaleur.

- Coloration par le cristal violet, agir pendant 1 min, puis rincer à l'eau distillée ;
- Coloration par lugol, laissez agir pendant 1 min, puis rincer à l'eau distillée ;
- Décoloration rapide par l'alcool, laissez agir pendant 15s, rincer avec l'eau distillée ;
- Recoloration à la fuschine, laissez agir pendant 1 min, rincer doucement à l'eau distillée.
- Séchage suivi par l'ajout d'une goutte d'huile à immersion et faire l'observation sur microscope optique grossissement X100.

4. Galerie biochimique (AP 120)

Le système API 20 est une version réduite des tests biochimiques traditionnels utilisés pour identifier les Enterobacteriaceae. Il comprend 23 tests biochimiques, des microtubes contenant des substrats déshydratés, qui sont mis en solution par l'ajout d'une suspension de la bactérie à identifier. Une période d'incubation de 24 heures à 37°C permet à la bactérie de réagir avec les substrats.

Préparation de l'inoculum

On a utilisé des colonies jeunes (24 h d'incubation) isolées et pures. À l'aide d'une anse de platine stérile on a déposé ces colonies pures dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile.

On a réparti 5 ml d'eau distillé stérile dans les alvéoles de la galerie pour garantir une atmosphère humide. Par la suite la galerie est déposée dans une boîte.

Les cupules ont été rempli par la suspension bactérienne pour les tests CIT ; VP ; GEL et pour les tests ADH ; LCD ; ODC ; H2S et le URE recouvert par l'huile de paraffine qui assure l'anaérobiose. Les autres tests ne nécessitent pas de remplir les cupules complètement (**Figure 19**).La galerie est incubée à 37°C pendant 24h.



Figure 19:Galerie biochimique des souches isolées.

Les réactions sont traduites par une variation spontanée des couleurs suite à l'addition ou non des réactifs. La révélation des tests TDA ; IND et le VP est faite par TDA ; KOVACS ; VP1 et VP2 respectivement. Ce changement est identifié à l'aide d'un code de 7 chiffres obtenue par la fiche remplie avec les résultats après la lecture qui se fait grâce à logiciel API WEB.

5. Identification des entérocoques

Cette identification est basée sur 2 tests nécessitant l'utilisation de bouillon BHIB.

- Premièrement, dans un tube contenant 9 ml de bouillon BHIB, on a introduit une colonie pure. Ce tube est chauffé au bain marie à 60°C pendant 30 min.
- Ensuite une colonie de la même souche est introduite dans un deuxième tube contenant le BHIB avec une concentration de 6.5% de Na Cl.
- Suivies d'une incubation des tubes à l'étuve pendant 24 h à une température de 45 °C.

Une réaction positive se traduit par la présence de trouble au niveau des 2 tubes.

6. Détermination de l'antibiorésistance des souches isolées

Les souches ont été testées pour leur sensibilité aux agents antibactériens en utilisant la méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton. L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure où des colonies bien isolées et identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine, puis déposées dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

Sur des boîtes contenant le milieu Muller Hinton ; l'inoculum est ensemencé par méthode d'écouvillonnage avec des stries serrées. Différents disques d'antibiotiques ont été déposés avec une pince stérile. Les antibiotiques testés sont mentionnés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Les antibiotiques utilisés et leur charge spécifique.

Antibiotique	Charge de disque	Famille
Amoxicilline	AMC 30	Béta lactamines
Gentamicine	CN120	Aminosides
Nitrofurantoin	F300	Nitrofuranes
Amikacin	AK30	Aminosides
Triméthoprimésulphamétho-xazole	SXT 25	Sulfamides
Sulfamides	COT25	sulfamides

1.2.4. Extraction des composés bioactifs par macération

La macération est une technique qui implique de laisser reposer la spiruline dans un solvant aqueux afin d'extraire les composés bioactifs essentiels. Différents solvants peuvent être utilisés tel que le méthanol, l'éthanol et l'acétone :

- A l'aide d'un mortier, les paillettes de la spiruline ont été écrasées pour l'obtention d'une poudre (figure 20).
- On a ensuite pesé 10 g de la poudre obtenue ;
- Puis on a ajouté 100 ml de solvant constitué de 60 ml éthanol + 40 ml de l'eau distillé ;
- Le mélange est laissé dans l'obscurité à température ambiante pendant 24h ;

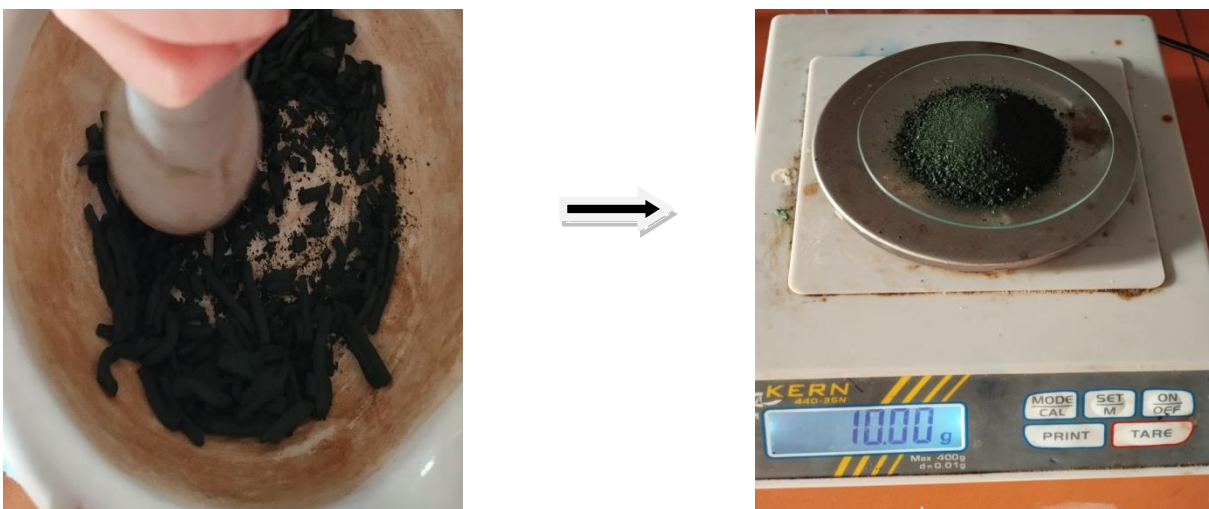


Figure 20 : Préparation de la poudre

- Le mélange a été filtré avec du papier wattman n°1 ;
- L'opération a été répétée trois fois pour récupérer le maximum des composés ;

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

- Les macéras des 3 jours ont été récolté dans un seul récipient ;
- L'extrait obtenu est concentré sous vide à 45°C par rota vapeur jusqu'à l'évaporation (**Figure 21**);
- L'extrait sec obtenu a été séché à l'aide d'une étuve ventilée pendant 6h ;
- La conservation a été faite dans l'obscurité à une température de 4c°.

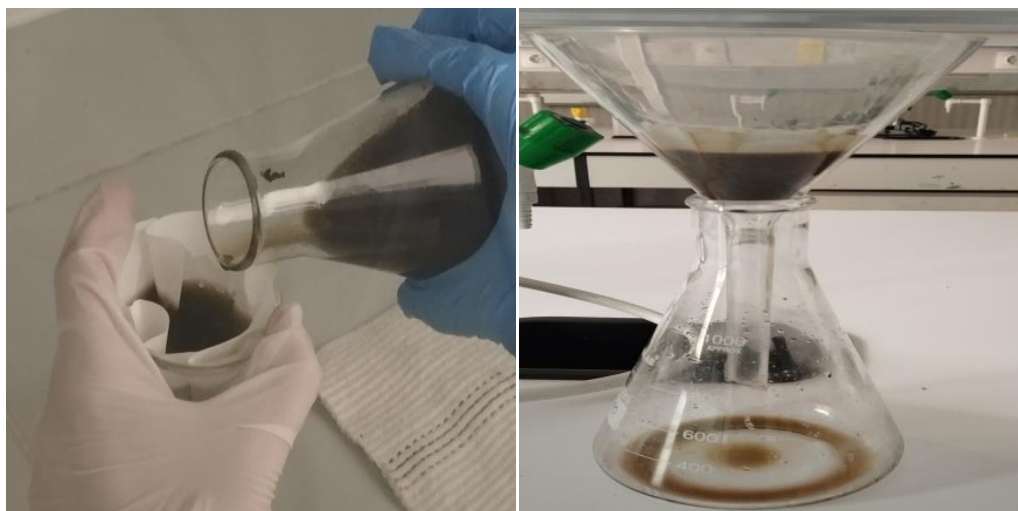


Figure 21:Processus de filtration et évaporation de l'extrait

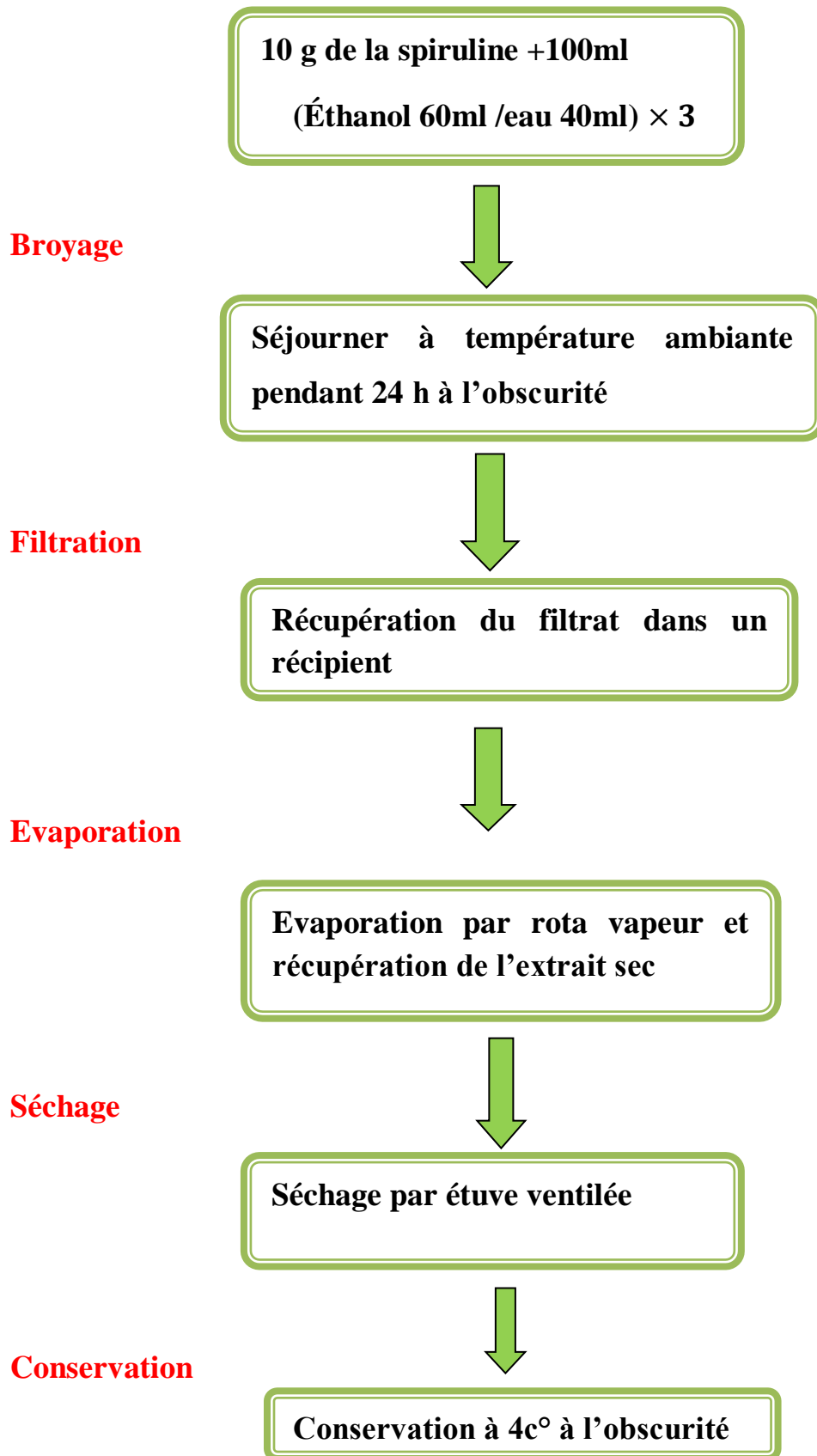


Figure 22:Schéma général de protocole de macération.

➤ Calcul de rendement

Le taux d'extraction représente la proportion du composé actif dissous dans le solvant organique employé pour l'extraction. Il est calculé en se basant sur le poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche transformée en poudre et utilisée pour l'extraction (77).

$$\mathbf{R\% = (masse d'extrait sec en g / la masse de la matière végétale) \times 100}$$

1.2.5. Détermination de l'activité antibactérienne d'extrait sec

1) Les microorganismes testés

Les micro-organismes isolés du poulet de chair ; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp* et *Salmonella spp* ont étéensemencé par écouvillonnage d'une suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml sur les boites contenant de la gélose Muller Hinton.

2) Préparation de l'extrait de la spiruline

0,70 g de l'extrait obtenu a été mélangé avec 1 ml diméthylsulfoxyde (DMSO).

3) La méthode de diffusion des puits

Cette technique a été développée par COOPER et WOODMAN en 1946, puis adoptée par SHRODER et MESSING en 1949. Elle permet d'évaluer la diffusion radiale d'un extrait à partir d'un puits en créant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne. Le principe consiste à découper un cylindre vertical dans la gélose et à y ajouter une solution d'extrait de concentration connue(78).

- Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pipette pasteur stérile ; des puits de 6 mm ont été réalisé sur la gélose Muller Hinton préalablementensemencée par la suspension bactérienne.
- 50 µl du mélange « extrait de spiruline-DMSO » ont été versé dans chaque puitet laissé reposer sur la paillasse pendant 30 minutes pour une meilleure diffusion.
- Les boites ont ensuite été incubées à 37c° pendant 24h.

L'activité antibactérienne de l'extrait de spiruline testé est déterminée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues au contact et autour des puits. Puis, comparés aux valeurs de référence afin d'évaluer l'effet de notre extrait (79).

2. Résultats et discussion

2.1.1. Résultats d'isolement des souches

A partir des 20 échantillons ; on a isolé 17 *Escherichia coli* ; 10 souches de *Staphylococcus aureus* ; 8 sur 20 d'*Enterococcus spp* et 3 sur 20 de *Salmonella spp*.

1) *Escherichiacoli*

Après incubation à 37c° pendant 24h une observation macroscopique est réalisée. Sur milieu BCP, les colonies ciblées sont celles qui ont une couleur jaune, ce qui représente une acidification du milieu par fermentation du lactose. Cette dégradation du lactose correspond à une croissance de colonies arrondies, lisses à bords réguliers sur milieu GN, et à des colonies roses bombées ; rondes ; lisses et sèches sur milieu Macconkey.

Pendant la recherche des *Salmonella spp* dans le foie ; certaines boîtes du milieu Hektoen présentaient des colonies rose saumon qui suggère la présence d'*Escherichia. Coli*.

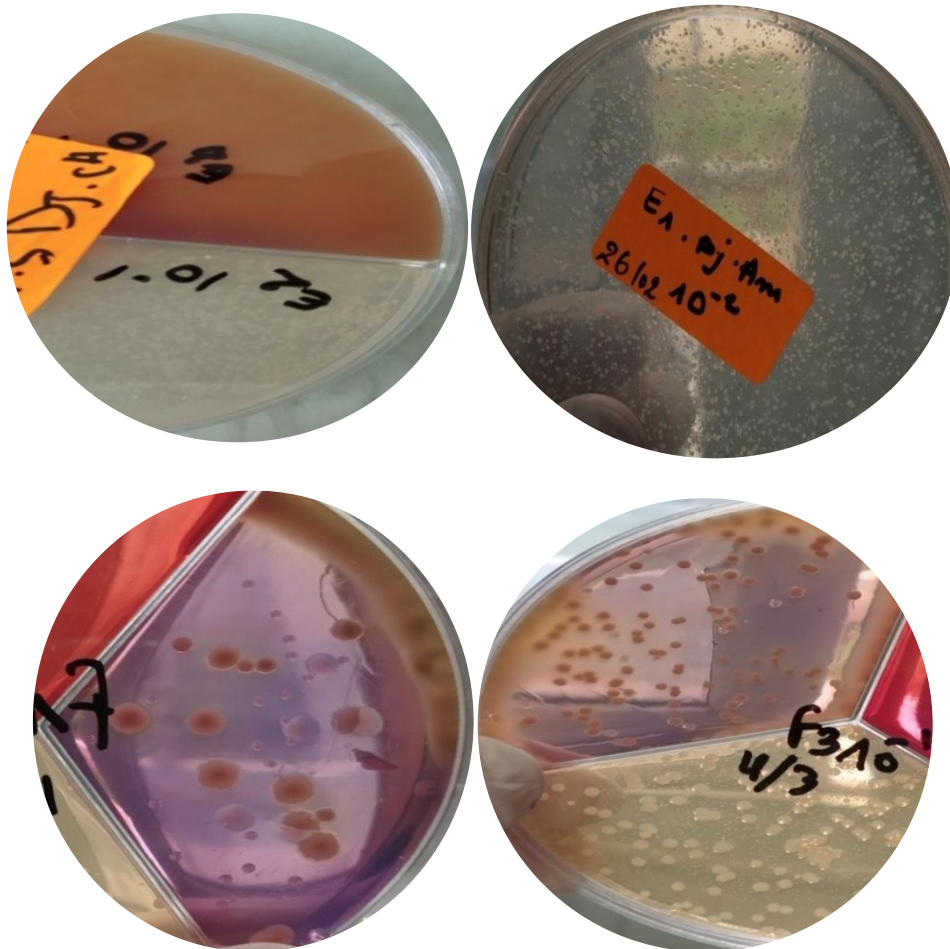


Figure 23: *Escherichia coli* sur milieu GN et BCP

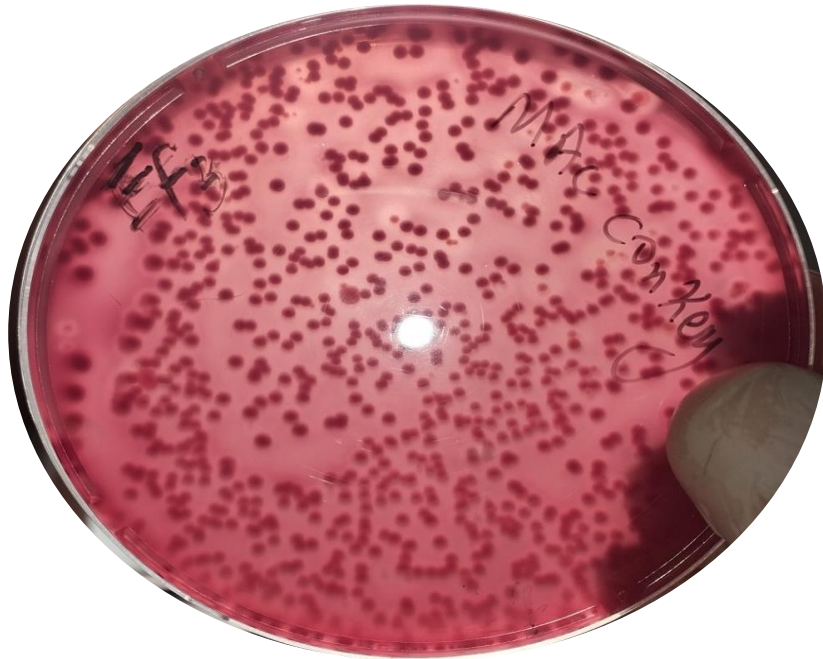


Figure 24: *Escherichia coli* sur milieu mac conkey

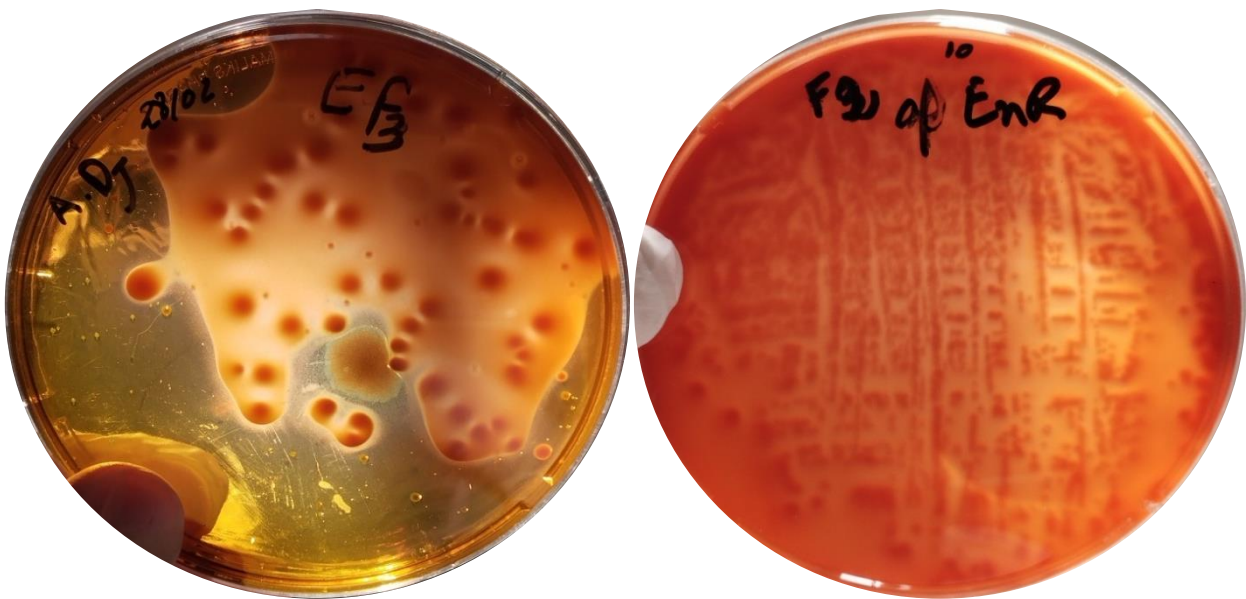


Figure 25 : *Escherichia coli* sur milieu Hektoen.

2) Recherche des salmonelles

Après enrichissement et incubation pendant 24 h à 37c° une observation macroscopique est réalisée. Cette observation est caractérisée par l'apparition de colonies vertes à centre noir causé par la production de H₂S sur milieu HEKTOEN. Cela indique la présence potentielle des salmonelles.

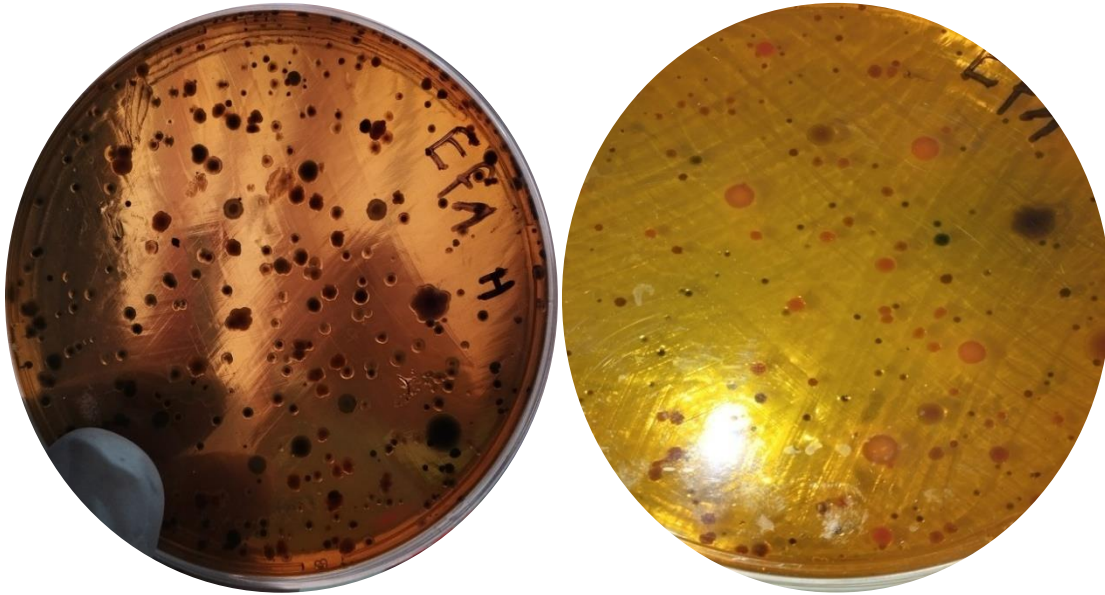


Figure 26 : Colonies des salmonelles sur milieu Hektoen.

Au cours de la recherche des *Escherichia coli* sur Mac Conkey ; des colonies incolores sont apparues ; on les a suspecté d'être des *Salmonella spp*

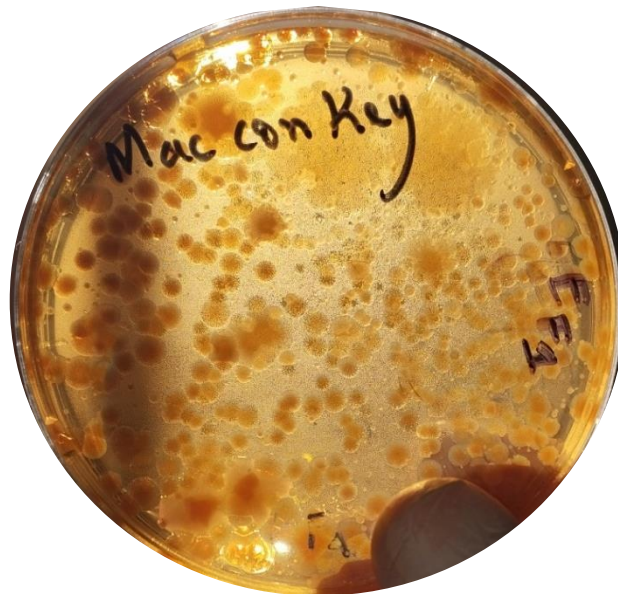


Figure 27 : Colonies des salmonelles sur milieu Mac conkey

3) Recherche des staphylocoques

Après incubation à 37c° pendant 24h une observation macroscopique est réalisée. On a constaté la présence de colonies jaunes ; lisses ; luisantes et pigmentées sur milieu Chapman entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol. Sur certaines boîtes des colonies blanches ont été observées ce qui indique l'absence de fermentation du mannitol. Ces résultats expriment la présence probable des staphylocoques.

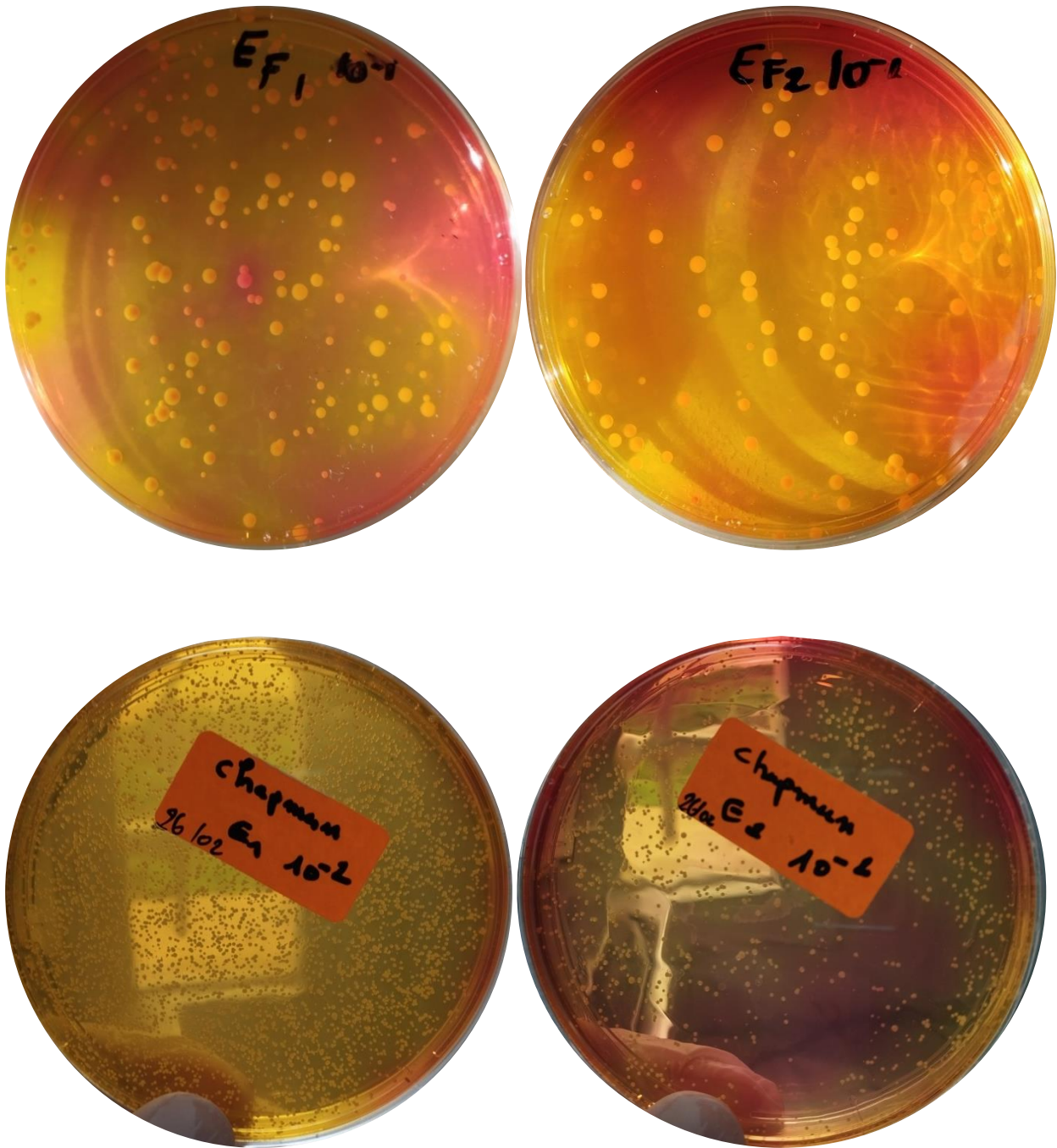


Figure 28 : Colonies de staphylocoques sur milieu Chapman.

4) Recherche des entérocoques

Après enrichissement et incubation à 37°C pendant 24 h ; une observation macroscopique est réalisée. Une coloration brune à noire du milieu BEA par l'hydrolyse de l'esculine a été observée; ce qui suggère une présence potentielle des colonies appartenant au genre *Enterococcus*.

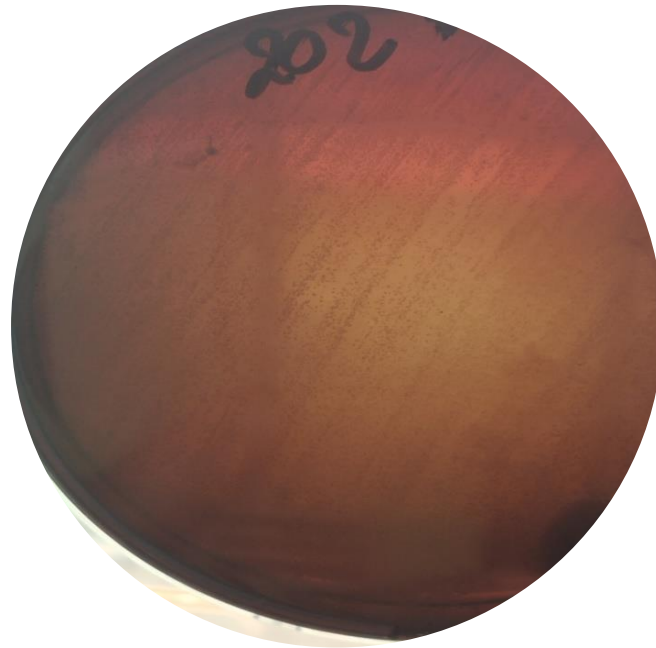


Figure 29 : Colonies d'entérocoques sur milieu BEA.

Les résultats obtenus après isolement indiquent que le poulet de chair constitue un réservoir d'agents potentiellement pathogènes capables de produire des toxines. Dans notre étude l'espèce bactérien le plus fréquent trouvé dans les échantillons était *Escherichia coli* à 85%, suivie de *Staphylococcus aureus* à 50%, *Enterococcus spp* à 40% et *Salmonella spp* à 15%. Certaines boîtes indiquent la présence de bactéries du genre *Proteus* mais l'identification n'a pas été poursuivie et donc les colonies suspectées n'ont pas été prises en compte.

2.1.2. Résultats des tests d'identification biochimiques

1) Test catalase, oxydase et Coloration de Gram

Les résultats du test de la catalase ; d'oxydase et de la coloration de Gram sont représentés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Résumé des résultats des tests d'identification

Bactéries	Catalase	Oxydase	gram
<i>Escherichia coli</i>	Positif	Négatif	Gram négatif
<i>Salmonella spp</i>	Positif	Négatif	Gram négatif
<i>Staphylococcuspp</i>	Positif	Négatif	Gram positif
<i>Enterococcuspp</i>	Négatif	Négatif	Gram positif

2) Résultats de galerie biochimique

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

La galerie API 20 E nous a permis de compléter l'identification d'espèces isolées. Les résultats sont représentés dans les tableaux et les figures suivants :

Tableau 12 : Résultats de galerie biochimique d'*Escherichiacoli* .

Tests	OPNG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultats	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+



Figure 30 : Galerie API 20 d'*Escherichiacoli* après 24 d'incubation.

Tableau 13 : Résultats de galerie biochimique de *Salmonella spp.*

Tests	OPNG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultats	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+



Figure 31 : Galerie API 20 de *Salmonella spp* après 24 d'incubation.

Tableau 14 : Résultats de la galerie biochimique de *Staphylococcus aureus*.

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

Tests	OPNG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultats	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-



Figure 32 : Galerie API 20 de *Staphylococcus spp* après 24 d'incubation.

Tableau 15 : Résultats de la galerie biochimique d'*Enterococcus spp*.

Tests	OPNG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultats	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+



Figure 33 : Galerie API 20 d'*Enterococcus spp* après 24 d'incubation.

3) Résultats d'indentification spécifique des entérocoques

Après incubation pendant 24h à 45c° ; une observation macroscopique est effectuée pour les tubes de BHIB. Cette observation indique un trouble dans les deux tubes avec et sans Na Cl ; donc on conclue que la souche testé fait partie du genre *Enterococcus*.

4) Résultats des antibiogrammes

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

La sensibilité des espèces isolées a été étudiée conformément aux recommandations de l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing 2020) (ANNEXE 2) en appliquant la méthode de diffusion des disques vis-à-vis de 6 antibiotiques sur une bactérie de chaque genre isolé, les résultats sont représentés dans les figures (34,35,36,37) et les tableaux (16,17,18,19)



Figure 34 : Résultats d'antibiogramme d'*Escherichia coli*.

Les résultats de l'activité antibactérienne d'*Escherichia coli* pour chaque antibiotique sont représentés dans le tableau suivant

Tableau 16 : Résultats d'antibiogramme d'*Escherichia coli*.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Résistante	Intermédiaire	Sensible
bétalactamine	Amoxicillin	AMC 30		×	
aminosides	Gentamicine	CN120			×
	Amikacin	AK30			×
sulfamide	Sulfamide	COT25	×		
	Triméthoprim-sulphométhoxazole	SXT25	×		
nitrofurane	Nitrofurantoin	F300			×

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

D'après les résultats obtenus ; *Escherichia coli* montre une forte résistance à la famille des sulfamides. La sensibilité de cette souche est forte vis-vis des aminosides (gentamicine et Amikacin) car ces derniers ne sont pas utilisés dans l'élevage agricole alors le taux de résistance est très faible(80).*Escherichia coli* présente également une sensibilité à la famille des nitrofurane.



Figure 35 : Résultats d'antibiogramme de *Salmonella spp.*

Les résultats de l'activité antibactérienne *Salmonella spp* pour chaque antibiotique sont représentés dans le tableau suivant

Tableau 17 : Résultats d'antibiogramme de *Salmonella spp.*

Famille	Antibiotique	abréviation	résistante	intermédiaire	sensible
bétalactamine	Amoxicillin	AMC 30	×		
Aminosides	Gentamicine	CN120			×
	Amikacin	AK30			×
sulfamide	Triméthoprim-sulphométhoxazole	SXT25	×		
nitrofurane	Nitrofurantoin	F300	×		

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

Salmonella spp présente une forte résistance à la famille des bêtalactamines ; des sulfamides et des nitrofuranes. Néanmoins, elle est sensible aux aminosides à cause de leur action inhibitrice de la synthèse des protéines(80).

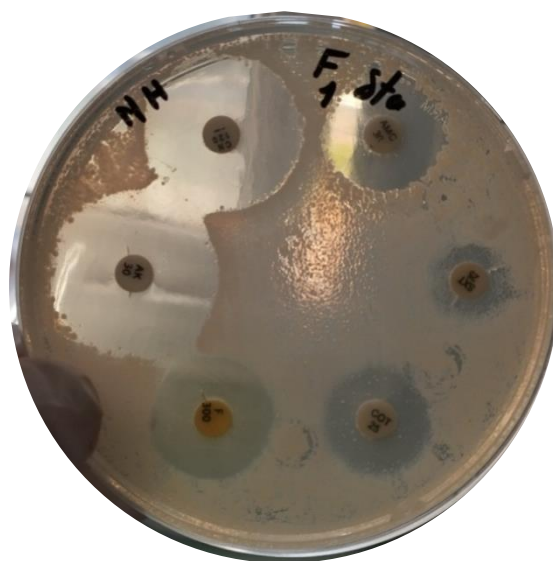


Figure 36 : Résultats d'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne *Staphylococcus aureus* pour chaque antibiotique sont représentés dans le tableau suivant

Tableau 18 : Résultats d'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.

Famille	Antibiotique	abréviation	résistante	intermédiaire	sensible
bêtalactamine	Amoxicillin	AMC 30		×	
aminosides	Gentamicine	CN120			×
	Amikacin	AK30			×
sulfamide	Sulfamide	COT25		×	
	Trimethoprim-sulphomethoxazole	SXT25	×		
nitrofurane	Nitrofurantoin	F300			×

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

Selon les résultats obtenus ; notre souche n'est résistante qu'au Triméthoprim-sulphométho-xazole qui fait partie de la famille des sulfamides. Elle a une sensibilité à la famille des aminosides et aux nitrofuranes.



Figure 37:Résultats d'antibiogramme d'*Enterococcus* spp.

Les résultats de l'activité antibactérienne d'*Enterococcus* spp pour chaque antibiotique sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 19:Résultats d'antibiogramme d'*Enterococcus*

Famille	Antibiotique	abréviation	résistante	intermédiaire	sensible
bétalactamine	Amoxicillin	AMC 30			×
Aminosides	Gentamicine	CN120			×
	Amikacin	AK30		×	
sulfamide	Triméthoprim-sulphométho-xazole	SXT25			×
nitrofurane	Nitrofurantoin	F300			×

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

Selon les résultats obtenus; *Enterococcus spp* marque une forte sensibilité à la majorité des antibiotiques utilisées : bêtalactamine ; gentamicine ; aminosides ; sulfamide et nitrofurane.

D'après les résultats représenté dans les figures et les tableaux précédents ; on remarque que tous les bactéries représentent une sensibilité contre la gentamicine.

5) Résultats d'extraction

La macération nous a permis d'avoir un extrait sec de 2.24 g ; avec un rendement de 22,4% à partir de 10 g de spiruline ; dans lequel :

$$R = (2.24/10) \times 100 = 22.4\%$$

2.1.3. Résultats de l'activité antibactérienne d'extrait

Dans le but d'analyser l'efficacité d'extrait sur les espèces isolées ; l'étude de la sensibilité a été effectué sur une seule bactérie pour chaque genre obtenu.

Selon les recherches de **TRABELSI**, le diamètre qui indique la présence d'une activité antibactérienne de l'extrait est supérieur à 8 mm (**81**).

Les résultats obtenus en fonction d'une concentration de 70 mg dans 1 ml de DMSO sont représentés dans les figures (38, 39, 40,41) suivant :



Figure 38 : Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre *Staphylococcus aureus*.



Figure 39:Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre *Escherichia coli*.

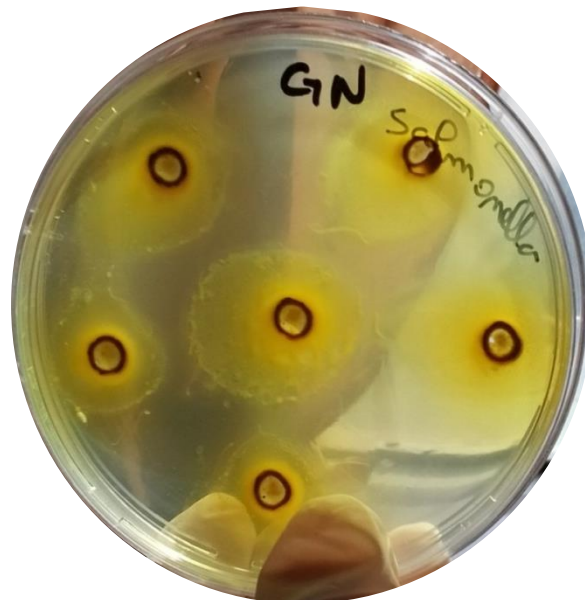


Figure 40:Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre *Salmonella spp.*

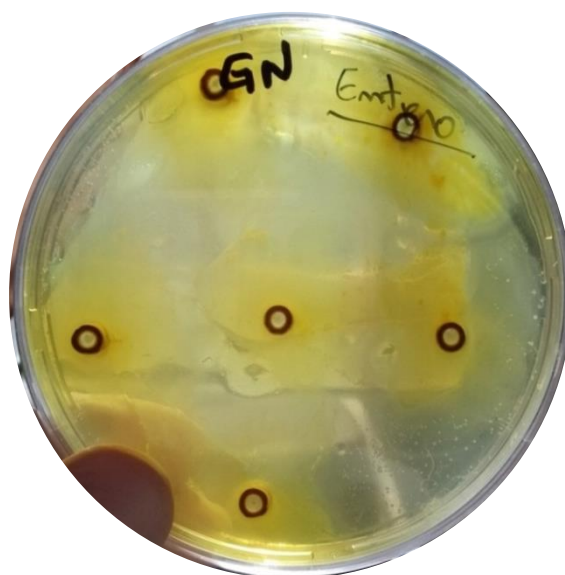


Figure 41 : Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre *Enterococcus spp.*

L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour de puits. Dans lequel on observe d'après les figures précédentes que l'extrait éthanolique montre une efficacité sur toutes les souches isolées. L'action et le diamètre de la zone d'inhibition varient selon l'espèce testée.

L'étude de l'activité de l'extrait a donné d'une côté des diamètres de (19, 22, 20, 22,21 ,27mm) envers *Staphylococcus aureus* et diamètre (15, 18, 20,19,15,16 mm) envers *Enterococcus spp* ;d'autre côté des diamètre de (18,18,21,24,21,23 mm) envers *Salmonella spp* et de (9,10,11,9,14,14 mm) envers *Escherichia coli* .

Nos résultats s'accordaient avec l'étude précédente d'ABDO ; KAUSHIK et CHAUHAN qu'ont rapportés que les cyanobactéries présentent une activité antibactérienne efficace envers les bactéries gram positif et les grams négatifs (82)(83)

Ces résultats sont représentés dans le tableau 20 :

Tableau 20 : Le diamètre de zone d'inhibition pour chaque isolat

Bactéries	<i>Escherichia .coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Enterococcus spp</i>
Le plus grand diamètre de zone d'inhibition	14	27	24	20

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

Suite à l'acquisition de ces résultats, une analyse comparative a été réalisée entre le diamètre de la zone d'inhibition des divers antibiotiques testés ayant une activité sur la souche et le diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait de spiruline dans les puits. Les résultats de cette comparaison sont illustrés dans les diagrammes suivants (figure 42, 43, 44 et 45).

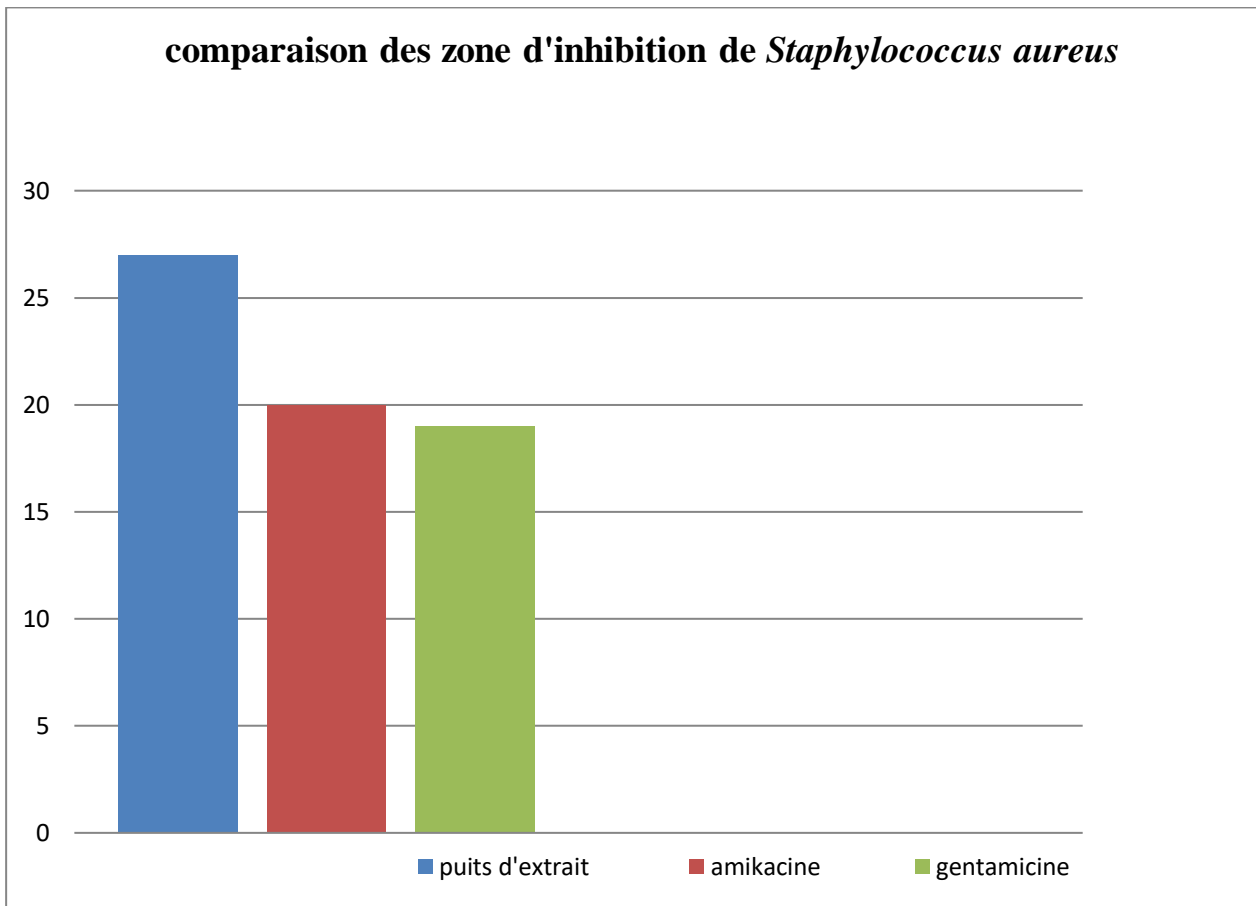


Figure 42 : Diagramme des résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez *Staphylococcus aureus*.

Le diagramme représente les résultats de comparaison entre le diamètre de zones d'inhibition de l'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez *Staphylococcus aureus*. On observe que le plus grand diamètre de zone d'inhibition d'extrait est 27mm; d'autre part le diamètre de la zone d'inhibition de la gentamicine est de 19mm et l'Amikacin de 20 mm. Comparativement, la gentamicine montre une inhibition similaire à l'activité minimale d'extrait tandis que l'amikacin offre une inhibition légèrement supérieure. Cela suggère que l'extrait pourrait être promoteur comme agent antimicrobien contre *Staphylococcus aureus*.

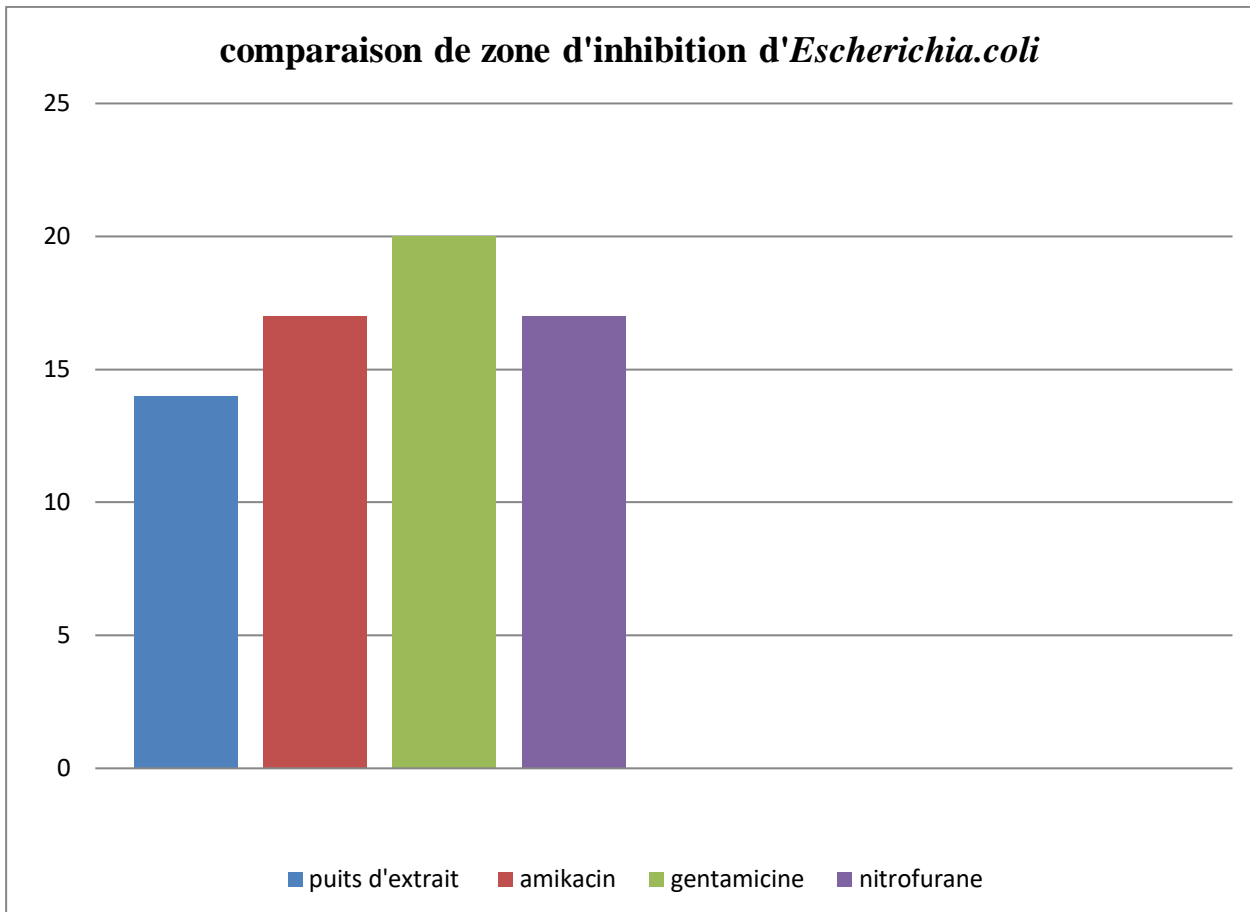


Figure 43: Diagramme des résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez *Escherichia coli*.

Le diagramme représente les résultats de la comparaison entre le diamètre des zones d'inhibition de l'extrait et les antibiotiques testés chez *Escherichia coli*. On remarque une activité maximale de 14 mm par contre le diamètre de la gentamicine peut aller jusqu'à (20mm) ; l'amikacin à (17mm) et nitrofurane à (17mm). On a enregistré une activité antibactérienne moyenne de l'extrait envers cette souche. Ces mesures indiquent que l'extrait de spiruline possède une capacité à inhiber la croissance de la souche avec une variation dans son efficacité.

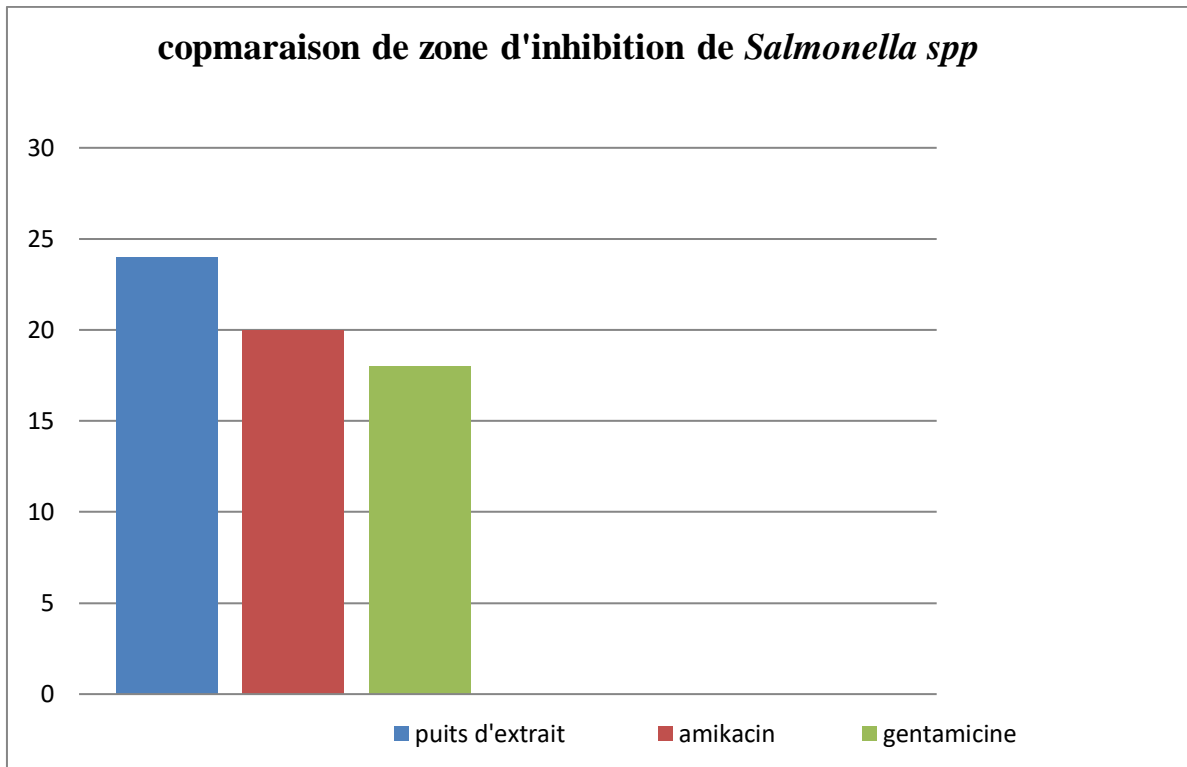


Figure 44: Diagramme des résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez *Salmonella spp*.

Le diagramme représente les résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez *Salmonella spp*. On remarque un diamètre d'inhibition de 24 mm chez l'extrait de spiruline; en ce qui concerne la gentamicine et l'amikacine ; on remarque un diamètre d'inhibition de (18mm) et (20mm) respectivement. Bien que les antibiotiques montrent une capacité à inhiber la croissance de la souche, l'extrait de la spiruline est légèrement plus efficace. Cela suggère que la spiruline puisse être considérée comme un agent potentiel dans la lutte contre *Salmonella spp*.

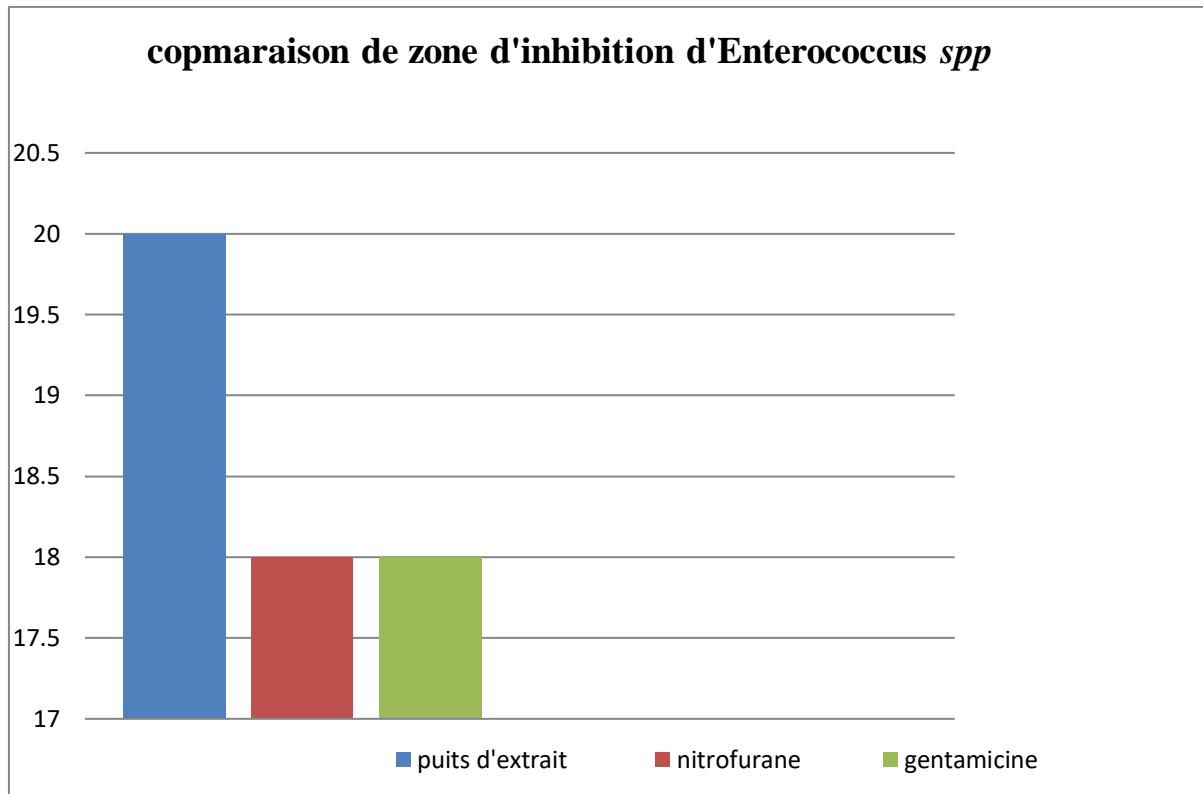


Figure 45: Diagramme des résultats de comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez *Enterococcus spp.*

Le diagramme indique les résultats de la comparaison entre le diamètre de zone d'inhibition d'extrait sur les différents puits et les antibiotiques testés chez *Enterococcus spp.* On observe un diamètre d'inhibition de 20 mm par l'extrait et un diamètre d'inhibition de (18mm) pour la gentamicine et nitrofurane. Cela suggère que la spiruline pourrait être une alternative aux antibiotiques dans le traitement des infections causées par *Enterococcus spp.*

Les résultats de notre extrait montrent une efficacité intéressante sur tous les germes testés en raison de son d'origine naturelle et sa capacité moins sujette à la résistance bactérienne et que l'efficacité sur les grams positifs est plus remarquable que celle des grams négatifs. Ces résultats sont compatibles avec les résultats des différentes études précédentes comme **BOUTALBI 2014, TRABELSI 2010 et USHARANI 2015** qu'ont montré que l'extrait de la spiruline donne une forte efficacité sur les bactéries gram positif notamment *Staphylococcus aureus* par rapport aux bactéries gram négatif (**84**) (**81**) (**85**).

Selon les études d'**ERGENE 2006**, l'explication de cette différence d'effet pourrait être en raison de la composition de la paroi cellulaire(**86**). Chez les bactéries à gram positif, la paroi est formée d'une seule couche, tandis que celle des bactéries à gram négatif a une structure multicouche limitée par une membrane cellulaire externe. La nature de solvant utilisé peut

CHAPITRE IV : PARTIE PRATIQUE

aussi influencer la variation de l'activité antimicrobienne de l'extrait. **D'après El-SHEEKH** l'extrait d'éthanol suggère la présence de métabolite bioactifs solubles dans ce solvant ce qui pourrait expliquer son efficacité contre divers micro-organismes **(87)**.

En dépend les résultats que on a obtenus, l'extrait de la spiruline peut être considère comme un alternative probiotique des antibiotiques dans l'élevage de poulet de chair pour contrôler les infections bactériennes.

CONCLUSION

L'étude que nous avons menée sur l'activité antibactérienne de l'extrait de la spiruline sur des souches bactériennes isolées de poulet de chair a atteint les objectifs assignés.

D'une part, les résultats d'isolement et d'identification sur les 20 échantillons de poulet de chair analysés se sont manifestés par la présence de 85% d'*Escherichia coli*, 50% de staphylocoques. De plus, 40% des échantillons présentaient des entérocoques, tandis que près de 15% des échantillons ont été caractérisés par la présence des *Salmonella*. Ces résultats mettent en évidence le risque de pathologies bactériennes dans les produits aviaires étudiés, nécessitant alors l'utilisation d'agents antibactériens.

D'autre part, l'étude de l'efficacité de l'extrait de la spiruline contre les souches bactériennes obtenues montre une forte sensibilité des souches à gram positif tel que *Staphylococcus aureus* et une faible sensibilité des gram négatif spécifiquement *Escherichia coli* en comparaison avec certains antibiotiques tel que gentamicine.

En outre, l'étude de l'activité antibactérienne de la spiruline sur des souches bactériennes isolées de poulet de chair révèle un potentiel prometteur pour l'utilisation de cette microalgue en tant qu'alternative aux antibiotiques et solution naturelle pour contrôler les pathologies aviaires.

Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer quel est le composé bioactif responsable de cette activité et les méthodes idéales et non-chimique pour l'extraction de la spiruline. Cela pourrait inclure des études sur l'efficacité de cette microalgue dans l'alimentation des volailles et sous forme de suppléments dans l'eau potable en minimisant les risques potentiels pour la santé et l'environnement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **MOTTET.A and TEMPIO.G (2017)**. Global poultry production: current state and future outlook and challenges .Review article. Animal Production and Health Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
2. **SANOVI,1999** .Les maladies contagieuses des volailles, France.
3. **NDIAYE c.** étude anatomo-clinique et bacteriologique sur des cas suspects de colibacillose aviaire dans les regions de dakar et thies (senegal) these:universite cheikh antadiop de dakar; 1983.
4. **ABDALRAHMAN, L.S., STANLEY, A.M., Wells, H., Fakhr, M.K.** (2015). Isolation, virulence, and antimicrobial resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) strains from Oklahoma retail poultry meats. International Journal of Environmental Research and Public Health. 12 (6); 6148-6161.
5. **MUNDT, S., Kreitlow, S., Nowotny, A., Effmert, U.** (2001). Biological and pharmacological investigation of selected cyanobacteria. Int J Hyg. Environ Health203: 327–334.
6. **GOULAMBASSE, T. R. (2018)**. La Spiruline : Activités Thérapeutiques et son Intérêt dans la Lutte contre la Malnutrition à Madagascar, Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, université de Lille, p 9-16, 17, 25, 26. 46, 108, 109, 111, 112.
7. **VAN EEKEREN, N., Maas, A., Saatkamp, H. W., &Verschuur, M.** (2006). L'élevage des poules à petite échelle. Série Agrodok, 4, 6-19.
8. **SINGHAPOL C.** (2003). Genetic characterization by microsatellite polymorphism in Thai native chicken compare with broiler and layer fowls. University of Technology. ISBN 974-533-292-5. p17.
9. **BELKACEM B.** Contribution à l'étude des espèces de lactobacilles a caractère probiotique isolées de la poule domestiques (*Gallus gallusdomesticus*) de l'ouest algérien: Université d'Oran; 2012.
10. **CHRISTELE Pineau.** Produire du poulet de chair en AB. 2009,20.
11. **LE PICOREUR.** Bien manger les bienfaits nutritionnels de la volaille, 2024.
12. **VILLATE D.,** 2001, Les maladies des volailles. Edition : INRA. S. Beghou. Appareil digestif de la poule: particularités anatomo-physiologiques. L'appareil digestif. pp : 27-38.
13. **GAËLLE Dobignard , Jean –francois gressin ,** œuf , poule et poussin .anatomie de la poule et de l'œuf ; 2018.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

14. **AMGHROUS S, BEDRANI S.** La compétitivité de l'aviculture algérienne. 2007.
15. **AMMAR A.** Epidémiologie de salmonella typhimurium et salmonella enteritidis dans la filière avicole: Université El Hadj Lakhdar de Batna 1; 2010.
16. **OFAL,** 2001 "Observatoire des filières avicoles". Rapports annuels 1999 à 2001, Alger
17. **INRA,** (2005). La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour issues, by A.J. Kitalyi.
18. **CRHANOVA M, Hradecka H, Faldynova M, Matulova M, Havlickova H, Sisak F and Rychlik I** 2011. Immune response of chicken gut to natural colonization by gut micro flora and to salmonella enterica serovar enteritidis infection. Infection and immunity 79. 2755-2763.
19. **GIBSON GR and ROBERFROID MB** 1995. Dietary modulation of the human colonic Microbiota: introducing the concept of prebiotics. American Institute of Nutrition 22. 1401-1410.
20. **MELLATA .M.** Rôle des facteurs de virulence des Escherichia coli pathogènes aviaires dans la colibacillose. 2004.
21. **AL HASSANE M.,** 2012. La colibacillose du poulet de chair : Etude anatomo-clinique et circonstances d'apparition dans la zone périurbaine de Dakar. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop de Dakar Sénégal. 120 pages.
22. **LOUISE BELANGER, AMELIE GARENAUX, JOSEE HAREL, MARTINE BOULIANNE, ERIC NADEAU , CHARLES M DOZOIS .** Escherichia coli from animal reservoirs as a potential source of human extra intestinal pathogenic E.coli. (En ligne) 16 2011 .
23. **BOISSIEU C , GUERIN J.L.** Les colibacillose ou infections à Escherichia coli. (En ligne) Avicampus Ecole nationale vétérinaire Toulouse .2008.
24. **LAZRAG NAWAL .** Manuel d'autopsie et de pathologie aviaire. (En ligne) 2017/2018. [http://fac.umc.edu.dz/vet/Cours_Ligne/Cours/Manuel_autopsie_pathologie_aviaire .pdf](http://fac.umc.edu.dz/vet/Cours_Ligne/Cours/Manuel_autopsie_pathologie_aviaire.pdf).
25. **CASTAGNOS S.** Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie (AVIGUARD©) contre les salmonelles sur des poulets labels du sud-ouest: Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE; 1977.
26. **ATBA H.** Isolement et identification des salmonelles à partir de poulets de chair et des eaux usées: Souna D; 2016.
27. **CHAMANZA R et al.** Enterococcus-associated encephalomalacia in one-week-old chicks. Vet Rec, 1998;143:450-451.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

28. **NANA G. S.**, (2000) . Les points à risque de la contamination microbiologique de la viande de poulet de chair dans la région de Dakar. Thèse de sciences vétérinaires, université Cheikh Anta Diop, Dakar.
29. **DUCATELLERichard**. LES INFECTIONS BACTERIENNES DES OS ET DES ARTICULATIONS CHEZ LE POULET DE CHAIR: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE. Dixièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, La Rochelle, du 26 au 28 mars 2013.
30. **SHIVIAPRASAD ; 2016**.Manuel de pathologie aviaire. Edition Tec & Doc Lavoisier, Paris.
31. **FRANZ C, Et Holzapfel W, (2004)**.The Genus Enterococcus : Biotechnological and safety issues .In : Salminen ,S,Wright , A.,Etouwehand , A., Eds .Lactic Acid Bacteria. Microbiological and functional aspects .3rdEd .New York ,USA : Marcel Dekker , Inc , 199-248.
32. **DEVRIESE, L. A., HOMMEZ, J., WIJFELS, R., Haesebrouck, F.**, 1991. *J. Appli. Bacteriol.* 71(1), pp 46-50.
33. **BORST, L. B., SUYEMOTO, M. M., Sarsour, A. H., HARRIS, M. C., Martin, M. P., Strickland, J. D., Oviedo, E. O.,Barnes, H. J.**, 2017. *Vet. Pathol.* 54(1), pp 61-73.
34. **JUNG, A., Chen, L. R., Suyemoto, M. M., Barnes, H. J., & Borst, L. B.**, 2018. *Avian Dis.* 62(3), pp 261-271.
35. **KENSE MJ & LANDMAN WJM**.*Enterococcuscecorum*infections in broiler breeders and their offspring: molecular epidemiology. *Avian Pathol*, 2011,40:603- 612.
36. **GUERIN, J.-L., Balloy, D., Villate, D.**, 2011. *Maladies des volailles*. Paris : Editions France Agricole. pp 362-364.
37. **ANOUEK DRONNEAU** .synthèse élevage .Infectionà *Enterococcus Cecorum* impacts de la fragilité intestinale .MARDI 11 OCTOBRE 2022.
38. **DUPIRE J**. La spiruline un superaliment. Guy Trédaniel; 2016. 151 p.
39. **BARTH et LEO. (2019)**. Le Guide Complet de la Spiruline, Article scientifique, <https://naturalathleteclub.com/blog/savoir-spiruline-bienfaits,3,5,12,21p>.
40. **CHARPY., Langlande M. J., Alliod R.** (2008). La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. *Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche*. Institut de recherche pour le développement, Marseille, p6, 16, 67.
41. **AHOUNOU M. N. (2018)**. La spiruline : Un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. Thèse pour l'obtention d'un Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université de Rouen, UFR de Médecine et de Pharmacie, p 17-27, 40, 43, 47, 48, 51.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

42. **MANIT, A. (2016).** La spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires et Conseils à l'Officine, Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie, Diplôme d'état, Université Grenoble Alpes, Faculté de Pharmacie de Grenoble p : 8,12, 14, 15, 18, 21, 22.
43. **NIANGORAN N'GORAN U. F., 2017 :** Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : Eclairage et Estimation de la Biomasse, Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, Université Toulouse 3, Paul Sabatier, p 39.
44. **LECOINTRE, R. (2017).** Optimisation de la production de spiruline dans une ferme à Madagascar afin de lutter contre la malnutrition infantile, MEMOIRE INGENIEUR agroalimentaire de l'école nationale vétérinaire, agroalimentaire, et l'alimentation. Oniris, nante atlantiques, p 14.
45. **JOURDAN, J. P. (2006).** Cultivez votre spiruline. *Edt. AntennaTechnologie: 146*<http://www.antenna.ch/documents/manuelJourdan2061.pdf>.
46. **GUTIERREZ-Salmeán, G., Fabila-Castillo, L., & Chamorro-Cevallos, G. (2015).** Aspectos nutricionales y toxicológicos de Spirulina (arthrospira). *Nutricionhospitalaria*, 32(1), 34-40.
47. **LAVAL Legrain G, Legrain B.** Les incroyables vertus de la spiruline. Jouvence.2013.140 p.
48. **LE GUEHENNEC J.** La spiruline. Terre d'hommes. 2009. 180 p.
49. **DA COSTA E, Silva J, Mendonça SH, Abreu MH, Domingues MR.** Lipidomic Approaches towards Deciphering Glycolipids from Microalgae as a Reservoir of Bioactive Lipids. *Mar Drugs* [Internet]. 19 mai 2016 [cité 11 juin 2018];14(5).
50. **AVINOP, CARCONI P.L., LEPORE L., MOAURO A., 2000,** Nutritional and Environmental Properties of Algal Products Used in healthy Diet by INAA and ICP-AES journal of radioanalytical and Nuclear Chemistry.
51. **HELENE Cruchot (2008).** La spiruline, bilan et perspectives, thèse de doctorat pharmacie, Université de Besançon, p36,37.
52. **PIERLOVIS C .2007,** L'homme et la spiruline : un avenir commun : composition chimique interts alimentaires et activités biologique. Paris V-Renetdescartes , Faculté des sciences pharmaceutiques et biologique . Paris 162.
53. **CHARLEMAGNE Déborah. (2008).** La spiruline : aliment santé ? Mémoire DIU Alimentation Santé et Micro nutrition de la faculté de pharmacie de Dijon. P11.
54. **LABBANI (2021).** Cours Biochimie végétale ,Chp 4: Composés phénoliques, p1.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

55. **NOOSHKAM, M., VARIDI, M., & VERMA, D. K. (2020).** Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food research international*, 131, 109003.
56. **BOUGANDOURA, N. (2011).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Saturejacalaminhassnepta* (nabta) et *AjugaivaL.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire magister en Biologie; université Tlemcen. P 51.
57. **DAS, H. C., WANG, J. H., & Lien, E. J. (1994).** Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis. *Progress in Drug Research. Basel: Birkhauser Verlag, Journal of Food Engineering*, 69: 133-136.
58. **CUSHNIE, T. T., & Lamb, A. J. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356
59. **ASRES, K., SEYOUM, A., VEERESHAM, C., BUCAR, F., & GIBBONS, S. (2005).** Naturally derived anti-HIV agents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(7), 557-581.
60. **KIM, D. H., et al. (2007).** Nodakenin, a coumarin compound, ameliorates scopolamine-induced memory disruption in mice. *Life sciences*, 80(21), 1944-1950.
61. **OUCIF, H. (2018).** Valorisation des algues de la côte Ouest algérienne : potentiel antioxydant et hormonal. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 17 p.
62. **PERONNY, S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki *Lemur catta*. Thèse de doctorat. Muséum National d'Histoire Naturelle, 151 p.
63. **SHAO, W., Ebaid, R., El-Sheekh, M., Abomohra, A., & Eladel, H. (2019).** Pharmaceutical applications and consequent environmental impacts of *Spirulina* (*Arthrospira*): An overview. *Grasas y Aceites*, 70(1), 292.
64. **BENCHEIKH Amor, MAMACHE Walid, GHARZOULI Asma, KOUACHI Ahlem, HAIFKhadidja, DAICHIMeriemBarkahoum, RouagNoureddine(2022).** Evaluation of The *Spirulina* (*Arthrospira platensis* Gomont) Antimicrobial Activity ; *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*.
65. **ANDREANI C. G., 2012 :** Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, Faculté de Médecine Paris XIII, p 8, 9.
66. **FOX, R. D. (1999).** La spiruline : technique, pratique et promesse. Edition sud Aix-en Provence : 246. ISBN 2-7449-0100-8.
67. **EVOLI Conseil. (2014).** « Culture et vente de Spiruline : Etude de faisabilité économique », p17, 18, 22, 24.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

68. VIDALO, J. L. (2015). Spiruline, l'algue bleue de santé et de prévention, Livre, Chapitre 3 / Cancer et Spiruline, p 101, Chapitre 16 / Universelle spiruline. A chacun son profil p. 240.
69. CASAL A. (2019) : l'Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, www.spirulinefrance.fr
70. BYEON SY, Cho MK, Shim KH, Kim HJ, Song HG, Shin HS. Development of a Spirulina Extract/Alginate-Imbedded PCL Nanofibrous Cosmetic Patch. J MicrobiolBiotechnol. 28 sept 2017;27(9):1657-63.
71. CREPEAU C. Les vertus miraculeuses des algues. Pocket. 2014. p134
72. YOGIANTI F, Kunisada M, Nakano E, Ono R, Sakumi K, Oka S, et al. Inhibitory effects of dietary Spirulina platensis on UVB-induced skin inflammatory responses and carcinogenesis. J Invest Dermatol. oct 2014;134(10):2610-9.
73. LIVRELLI V, BOONET R, Joly B, DARFEUILLE-MICHAUD A : Escherichia coli et autre Escherichia, Shigella. In Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P, Précis de bactériologie clinique .2007, Edition ESKA; 989-1004.
74. TANKESHWAR A. (2013).Catalase test: principle, uses, procedure and results. Biochemical Tests for Gram Negative Bacteria.
75. TANKESHWAR.A. (2012).Oxidase test: Principle Procedure and oxidase positive organisms. Biochemical tests in Microbiology, laboratory diagnosis of Bacterial Disease.
76. BERRAHO E.(2009).Cours de Microbiologie Générale. Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, B.P. 1014, Rabat.
77. ABE, E., Delyle, S. G., &ALVAREZ, J. C. (2010). Extraction liquide-liquide:théorie,applications, difficultés. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 22, No. 2, pp. 51-59). EDP Sciences.
78. HELLAL, Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus: Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magister." Biochimie appliquée et Biotechnologies". Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p. 16-17.
79. AL-GHANAYEM, A. A. (2017). Antimicrobial activity of Spirulina platensis extracts against certain pathogenic bacteria and fungi. *Advances in BioResearch*, 8(6).
80. SABERFAR E, POURAKBARI B., CHABOKDAVAN K., TAJ DOLATSHAHI F, 2008: Antimicrobial susceptibility of Escherichia coli isolated from Iranian broiler chicken flocks, 2005–2006. J Appl Poult Res. 17,302–304.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

81. **TRABELSIL, BEN OUDA.H, BASSA.H.** (2010).Activités biologiques des métabolites excrètes par la cyanobactérie filamenteuse *Arthrospiraplatensis*. Laboratoire de biodiversité et biotechnologie marine ; Tunisie.
82. **ABDO.S.M., HETTA.M.H., SAMHAN. F.A., EL DIN. R.A.S., ALI.G.H.** (2012). Phytochemical and antibacterial study of five fresh water algal species. Asian J Plant Sci, 11(3), 109-116
83. **KAUSHIK, P., CHAUHAN, A.** (2008). In vitro antibacterial activityof laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. Indian J Microbiol, 48. 348-352.
- 84.**BOUTALBI SAFA,** Criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Arthrospiraplatensis*).Thème Soutenu publiquement Le : 08/06/2014, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA.
85. **USHARANI .G, G. Srinivasan, S. Sivasakthi and P. Saranraj,** Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Solvent Extracts against Pathogenic Bacteria and Fungi, Advances in Biological Research 9 (5): 292-298, 2015.
86. **ERGENE.A., GULER. P., TAN.S., MIRICI. S., HAMMAOGLU. E., DURAN. A.** (2006). Antibacterial and antifungal activity of *Heracleum sphondylium* subsp. *artvinense*. African Journal of Biotechnology; 5: 1087-1089.
87. **EL-SHEEKH. M., S.M. DABOOR.S.M., SWELIM.M.A. S. MOHAMED.** (2014). Production and characterization of antimicrobial active substance from *Spirulina platensis*. journal of microbiology. 6 (2) .112-119.

ANNEXES

Annexe 01 :

Composition des milieux de culture et produits chimiques utilisés

I. Milieux de culture

La composition des milieux de culture pour 1 L de l'eau distillée

1) milieu BCP

Ingrédients	Gram/litre	Ingrédients	Gram/litre
Peptone	5 .00 g	Bromocrésol pourpre	0.025 g
Lactose	10 g	Extrait de viande	3 g
Agar	15 g	pH	7

2) gélose nutritive

Ingrédients	Gram/litre	Ingrédients	Gram/litre
Peptone	5 .00 g	Extrait de levure	2 g
Chlorure de sodium	5 g	Extrait de viande	1 g
Agar	15 g	pH	7.3

3) milieu Chapman

Ingrédients	Gram/litre	Ingrédients	Gram/litre
Peptone	10 g	D- mannitol	10 g
Chlorure de sodium	75 g	Rouge de phénol	25m g
Agar	15 g	pH	7 .4

ANNEXES

4) milieu hektoen

Ingrédients	Gram/litre	Ingrédients	Gram/litre
Peptone	12 g	Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5 g	Sels biliaires	9 g
Agar	13.5 g	pH	7.6
Lactose	12 g	Bleu de bromothymol	65 mg
Saccharose	12 g	Thiosulfate de sodium	5 g

5) milieu Mac conkey

Ingrédients	Gram/litre	Ingrédients	Gram/litre
Peptone	17 g	Peptone pepsique de viande	1.5g
Chlorure de sodium	5 g	Sels biliaires	1.5 g
Agar	13.5 g	pH	7.1
Lactose	10 g	Rouge neutre	30 mg

6) milieu Muller Hinton

Ingrédients	Gram/litre	Ingrédients	Gram/litre
Peptone	13g	Amidon	1.5 g
Hydrolysate de caséine	17.5 g	Infusion de viande de bœuf	300 g
Agar	13 g	pH	7.4

ANNEXES

7) milieu BEA

Ingrédients	Gram/litre	Ingrédients	Gram/litre
Peptone	17 g	Extrait de viande	3g
Chlorure de sodium	1 g	Extrait de levure	5 g
Agar	13 g	pH	7.3
Citrate de fer	0.5 g	Citrate de sodium	1g
Bile de bœuf	10 g	Azide de sodium	0.25 g
Esculine	1 g	/	/

8) milieu BHIB

Ingrédients	Gram/litre	Ingrédients	Gram/litre
Peptone	10g	Phosphate disodique	2.5 g
Infusion de cervelle de veau	12.5 g	Infusion de cœur de bœuf	5 g
glucose	2 g	pH	7.4

9) Eau peptonéetamponée

Ingrédients	Gram/litre
Peptone	10 g
Chlorure de potassium	5 g
Phosphate disodique anhydre	3.5 g
Dihydrogénophosphate de potassium	1.5 g
Ph	7.2

ANNEXES

II Produits chimiques

Fushine phénique :

Fushine cristallisée	1 g
Alcool éthylique	10 ml
Phénol	5 g
Eau distillé	10 ml

Violet de gentiane

Violet de gentiane	1 g
Ethanol	10 ml
Phénol	11 g
Eau distillé	100 ml

Lugol

Iodure de potassium	2 g
Iode métalloïde	1 g
Eau quod satis	100g

ANNEXES

Annexe 02

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI selon EUCAST 2020

Table de lecture 1* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Amoxicilline	10µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8	La réponse à l'amoxicilline est variable pour l'amoxicilline.
Amoxicilline +Ac clavulanique	20/10µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤14	Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréconam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfotaxime (2g toutes les 8h), céfotaxime (1g toutes les 8h).
Céfazoline	30µg	≤18	20-22	≥23	≥8	4	≤2	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative ancienne basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Ceforline	30µg	≤14	16-17	≥18	≥32	16	≤8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.
Céfotaxime	30µg	≤22	23-26	≥28	≥4	2	≤1	Les résultats de la céfazoline permettent de prévoir les résultats pour les céphalosporines orales : céfator, céftinir, céfopodoxime, céfprozil, céfuroxime axétil, céfexime et ticarcipril quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>P. mirabilis</i> . Céfopodoxime, céftinir et céfuroxime axétil peuvent être leses individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : 1g toute les 12h.
Céfazoline (infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤14	—	≥16	≥32	—	≤16	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques
Aztreconam	30µg	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Imipénème	10µg	≤19	20-22	≥23	≥4	2	≤1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : imipénème : 500 mg toutes les 8h ou 1g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h.
Méropénème	10µg	≤19	20-22	≥23	≥4	2	≤1	La réponse phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques
Ertapénème	10µg	≤18	19-21	≥22	≥2	1	≤0,5	
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16	
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥16	≥16	8	≤4	
Acide nalidixique	30µg	≤13	14-18	≥19	≥32	—	≤8	La sensibilité déterminée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤21	22-25	≥26	≥1	0,5	≥0,25	Variable pour les entérobactéries autres que <i>Salmonella Typhi</i> et <i>Salmonella spp.</i>
Ciprofloxacine <i>Salmonella spp.</i>	5µg	≤20	21-30	≥31	≥0,06	0,12-0,5	≤1	
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8	Ne pas reporter en routine pour les souches isolées d'ITU sauf pour les salmonelles. Variable pour <i>S. Typhi</i> et <i>Salmonella spp.</i> extra-intestinales.
Colistine	CMI	—	—	—	≥2 ¹⁰	—	≤2 ¹⁰	La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, CBDE (technique d'éluion des disques) et CAT (dilution en milieu gélosé) sont acceptables (voir tests complémentaires). Le disque et le E-test ne doivent pas être utilisés*. Pour l'usage thérapeutique des polymyxines se référer à l'International consensus guidelines**.
Furanes	300µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	
Fostomiyine	200µg	≤12	13-16	≥16	≥256	128	≤64	Indique uniquement pour les souches d' <i>E. coli</i> isolées d'infections urinaires. Le disque de 200µg contient 50µg de glucose-6-phosphate. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose-6-phosphate.
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75µg	≤10	11-16	≥16	≥478	—	≤238	

*Tableau extrait du Document M100, 30th ed (2020) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **Extraits des recommandations de l'EUCAST 2020.
¹Test suji BT, Poque JM, Zawacki AP, et al. International consensus guidelines for the optimal use of the polymyxins. (Pharmacotherapy 2018; 38 (1):10-39) doi: 10.1002/psar.2209)
 Abréviations : PK-PD : Pharmacocinétique – pharmacodynamique; BLSE : β-lactamase à Spectre Étendu
 MHT : Modified Hodge Test; ITU : Infection du Tractus Urinaire; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice; CBDE : Colistin Broth Disk Elution; CAT : Colistin Agar Test

ANNEXES

Table de lecture 2* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 28	—	≥ 29	20-25	—	≤ 0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux. Interprétation variable pour toutes les pénicillines marquées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, piperacilline...)
Oxacilline (<i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i>)	—	—	—	—	24	—	≤ 2	
Céfotaxime (<i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 21	—	≥ 22	28	—	≤ 4	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfotaxime 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S. aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative. Pour les staphylocoques (autre que <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. pseudintermedius</i> et <i>S. sciureus</i>) les isolats dont la CMI à l'oxacilline est comprise entre 0,5 et 2 µg/ml peuvent être MeqA négatif. Pour les infections sévères, ces souches peuvent être testées pour le MeqA ou la PL2a, si le résultat est négatif elles peuvent être reportées sensibles à l'oxacilline.
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. pseudintermedius</i> et <i>S. sciureus</i>)	—	—	—	—	20,5	—	≤ 0,25	
Céfotaxime (S.C.N. sauf <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. pseudintermedius</i> et <i>S. sciureus</i>)	30 µg	≤ 24	—	≥ 25	—	—	—	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine **
Amikacine (<i>S. aureus</i>)	30 µg	≤ 16	—	≥ 18	≥ 16	—	≤ 8	
Amikacine (SCN)	30 µg	≤ 19	—	≥ 22	≥ 16	—	≤ 8	La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine : kanamycine (30 µg) : R : 18 mm pour <i>S. aureus</i> , R : 22 mm pour les SCN **
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23	≥ 8	14	≤ 0,5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de claritromycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à l'érythromycine et à la claritromycine ».
Clindamycine	2 µg	≤ 14	15-20	≥ 21	≥ 24	1-2	≤ 0,5	
Vancomycine (<i>S. aureus</i>)	CMI	—	—	—	≥ 16	4-8	≤ 2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> , ni de différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N., car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de la vancomycine est obligatoire.
Vancomycine (SCN)	CMI	—	—	—	≥ 22	8-16	≤ 4	
Télocoplanine	CMI	—	—	—	≥ 22	16	≤ 8	
Ofloxacine	5 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 24	2	≤ 1	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 24	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 24	2	≤ 1	
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 4/8	—	≤ 0,38	
Rifampicine	5 µg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 24	2	≤ 1	
Tétracycline	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 18	≥ 16	8	≤ 4	Les souches sensibles à la tétracycline, sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 22	16	≤ 8	
Quinupristine-dalopristine	15 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 24	2	≤ 1	A reporter pour les souches de <i>S. aureus</i> méticillino-sensibles. Interprétation variable pour la pristinamycine.
Acide fusidique **	10 µg	≤ 24	—	≥ 24	≥ 1	—	≤ 1	
Fosfomycine IV**	200 µg	≤ 23	—	≥ 23	≥ 32	—	≤ 32	La méthode de référence pour la détermination de la CMI est la dilution en milieu gélosé en présence de glucose-β-phosphate (25 mg/l)

* Tableau extrait du Document M100, 30th ed., 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.
 ** Extraits des recommandations du CASFM/EUCAST 2020.
 Abréviations : SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative. CMI : Concentration Minimale Inhibitrice. IV : Intra veineuse.

ANNEXES

Table de lecture 3* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤16	—	≥17	≥16	—	≤8	Interprétation variable pour ampicilline. Les résultats des tests de sensibilité à l'ampicilline doivent être utilisés pour prédire l'activité de l'ampicilline.
Tétracycline	30µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Interprétation variable pour la doxycycline.
Vancomycine	30µg	≤14	15-18	≥17	≥32	8-16	≤4	Rechercher la sensibilité diminuée aux glycopeptides. Confirmer par la CMI de vancomycine et de tétracycline en cas de réponse R ou I ou de screening test positif. Pour les souches dont la CMI est entre 8 et 16µg/ml, il faut confirmer l'identification biochimique.
Télocycline	30µg	≤10	11-13	≥14	≥32	16	≤8	
Gentamicine de haut niveau	120µg	≤6	7-9	≥10	> 600	—	≤500	CMI en milieu solide (BHI agar)
Streptomycine de haut niveau	300µg	≤6	7-9	≥10	> 1000	—	≤1000	CMI en milieu liquide (BHI bouillon)
					> 2000	—	≤2000	CMI en milieu solide (BHI agar)
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1	
Levofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8	4	≤2	
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23	≥8	14	≤0,5	
Furanes	300µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	
Rifampicine	5µg	≤16	17-19	≥20	≥4	2	≤1	
Fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16	≥256	128	≤64	Recommandé pour les souches d' <i>E.faecalis</i> isolées du tractus urinaire.
Quinupristine-dalfopristine	15µg	≤15	16-18	≥19	≥4	2	≤1	A reporter pour les souches d' <i>E.faecium</i> vancomycine résistant.
Chloramphenicol	30µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8	Interprétation variable pour la pristinamycine.
Tigecycline**	CMI	—	—	—	> 0,25	—	≤0,25	Interprétation variable pour thiamphenicol. Réponse en cas de multirésistance: Des CMI supérieures à la concentration critique de sensibilité sont très rares. L'identification et le test de sensibilité doivent être répétés. En cas de confirmation, la souche devra être envoyée à un centre de référence et catégorisée «résistante».

* Tableau extrait du Document M100, 30th ed., 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.
 ** Extraits des recommandations de l'EUCAST 2020.
 Abréviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice; BHI : Brain-Heart Infusion.