



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et  
Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour –Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée.

## Thème

Etude la résistance aux antibiotiques des souches *d'Escherichia coli* isolée chez la tortue

Présenté par: DABOUZ Nesrine  
GACHROU Hayet

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

President: Mr. LOUNIS M.

Promoteur: Mr. BELMAHDI M.

Examineur: Mr. MAHI M.

Grade

MCA

MCA

MAA

Univ

Djelfa

Djelfa

Djelfa

Année universitaire : 2023/2024

## **Remerciement:**

Avant tout, nous tenons à remercier notre Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour mener a terme ce travail.

Nous exprimons toute notre gratitude et nos remerciements, particulièrement a notre promoteur Mr BELMAHDI Mohamed le maître incontesté, par son talent extraordinaire a pu sans aucune difficulté, nous enseigner la microbiologie ainsi pour son soutien, sa disponibilité.

Sans oublier les ingénieurs des laboratoires PFE à la faculté SNV de l'université de Djelfa pour leurs précieux conseils et leur patience, qui grâce à eux nous avons appris beaucoup de choses.

Notre gratitude aux membres de jury Mr. LOUNIS Mohamed, en qualité du président de jury, et Mr. MAHI Mohamed, en tant qu'examineur, qui nous ont fait l'honneur de juger et examiner notre travail de fin d'étude.

## **Dédicace:**

Avant tout, nous tenons à remercier notre Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour mener à terme ce travail.

J'ai l'honneur d'offrir ce modeste travail à :

Mon cher père et ma mère qui m'ont donnée l'espoir et le soutien moral, les conseils, l'encouragement pour réussir et afin de me voir devenir ce que je suis, merci infiniment mes parents.

Mes chères sœurs et mes chers neveux je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement.

Mes amis intimes.

Mon binôme avec qui j'ai passé l'une des meilleures années durant dans ma vie, merci pour le soutien et les beaux souvenirs avec toi.

DABOUZ Nesrine

**Dédicace :**

Tous d'abord, merci mon Dieu de m'avoir donné la force de terminer ce travail.

A mes chers parents, mes soutiens, la raison de ma continuité, qui avez semé en nous l'amour des études depuis l'enfance. Merci pour votre amour et votre encouragement.

A mes sœurs pour vous m'avez partagé ma tristesse et ma joie

A mon binôme qui a partagé avec moi la période d'accomplissement de ce travail, merci pour le soutien et les bons souvenirs avec toi.

A mon encadreur Mr BELMAHDI Mohamed pour son soutien.

Et enfin à tous mes amis qui m'ont aidé

GACHROU Hayet

## Table des matières :

Remerciement : .....	
Dédicace : .....	
Liste des abréviations : .....	I
Liste des figures : .....	II
Liste des tableaux : .....	III
Introduction générale.....	1
Partie expérimentale	
Chapitre 1 : Matériel et méthode .....	8
1- Echantillonnage : .....	9
1-1. Prélèvement : .....	9
1-2. Les caractères des tortues sauvages étudiées : .....	9
2-Enrichissement : .....	13
3- Isolement : .....	14
4- Purification : .....	14
5- Identification bactérienne : .....	14
5-1. Examen macroscopique : .....	14
5-2. Examen microscopique : .....	14
5-3. Etude les caractères biochimiques : .....	15
6-Antibiogramme .....	22
7- BLSE (bêta lactamine à spectre élargi) : .....	23
Résultat.....	24
1-Échantillonnage et prélèvements: .....	25
2- Analyse bactériologique : .....	25
2-1. Etude Macroscopique : .....	25
2-2. Etude Microscopique : .....	26

2-3. Identification des tests biochimiques : .....	26
2-4 Répartition des souches <i>E. coli</i> selon l'origine du prélèvement: .....	27
2-5- Répartition des souches <i>E. coli</i> selon le sexe: .....	28
3- Etude la résistance et la sensibilité des antibiotiques: .....	28
3-1 Antibiogramme : .....	28
3-2 Distribution des souches <i>E. coli</i> selon l'origine de la résistance aux antibiotiques :.	30
3-3 Distribution de la résistance aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> selon le sexe: ....	30
3-4 La résistance aux antibiotiques : .....	31
3-5 Phénotypes de la résistance aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> isolées: .....	32
3-6 Répartition des phénotypes de la résistance aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> isolées selon le sexe : .....	33
3-7 Les résultats généraux : .....	34
3-8 Les résultats du test de synergie : .....	35
Discussion .....	37
Conclusion .....	41
Les références bibliographiques .....	43
Annexes .....	48
Résumé .....	58

## Liste des figures :

<b>Figure 1 :</b> Photos d'une tortue étudiée .....	9
<b>Figure 2 :</b> Enrichissement dans bouillon nutritive.....	14
<b>Figure 3 :</b> Isolement sur gélose de MacConkey .....	14
<b>Figure 4:</b> Préparation de la coloration de Gram .....	15
<b>Figure 5:</b> Test Fermentation du lactose et glucose et la production de gaz et H <sub>2</sub> S .....	17
<b>Figure 6:</b> test de citrate.....	18
<b>Figure 7:</b> Test de production d'indole.....	19
<b>Figure 8:</b> Test nitrate réductase .....	20
<b>Figure 9:</b> Test d'oxydase.....	21
<b>Figure 10:</b> Antibiogramme sur gélose MH .....	23
<b>Figure 11:</b> Exemple de résultat d'isolement et de purification .....	25
<b>Figure 12:</b> Observation après coloration de Gram en (grossissement* 1000) (origine 2024)	26
<b>Figure 13:</b> Résultat d'antibiogramme d'une souche. (origine 2024).....	28
<b>Figure 14:</b> Image de synerg .....	35

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1:</b> Caractéristique de tortue de la région El Mouilah. ....	9
<b>Tableau 2:</b> Caractéristique de tortue de la région Moudjbara. ....	10
<b>Tableau 3:</b> Caractéristique de tortue de la région Ain Oussera. ....	11
<b>Tableau 4:</b> Caractéristique de tortue de la région Djelfa. ....	12
<b>Tableau 5:</b> Caractéristique de tortue de la région Tlilat. ....	13
<b>Tableau 6:</b> Caractéristique de tortue de la région Boudibe. ....	13
<b>Tableau 7:</b> Présentation de la distribution des échantillons. ....	25
<b>Tableau 8:</b> Les caractères biochimiques des souches <i>E coli</i> . ....	26
<b>Tableau 9:</b> Répartition des souches selon l'origine des prélèvements... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
<b>Tableau 10:</b> Répartition des souches <i>E. coli</i> selon le sexe. ....	27
<b>Tableau 11:</b> Profile de la résistance et la sensibilité des souches <i>E. coli</i> isolées aux antibiotiques. ....	28
<b>Tableau 12:</b> Répartition de taux des souches selon l'origine et la résistance aux antibiotiques. ....	30
<b>Tableau 13:</b> Répartition de la résistance aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> selon le sexe. ....	30
<b>Tableau 14:</b> Profile de la résistance aux antibiotiques utilisés sur les souches <i>E coli</i> . ....	31
<b>Tableau 15:</b> Phénotype de la résistance aux antibiotiques sur les souches <i>E. coli</i> . ....	32
<b>Tableau 16:</b> Répartition des phénotypes de la résistance aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> isolées selon les femelles. ....	33
<b>Tableau 17:</b> Répartition des phénotypes de la résistance aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> isolées selon le sexe mal. ....	33
<b>Tableau 18:</b> Les résultats généraux. ....	34
<b>Tableau 19:</b> Les résultats du test de synergie des souches <i>E. coli</i> . ....	34



## Liste des abréviations :

<b>ADN</b>	<b>Acide désoxyribonucléique.</b>
<b>AN</b>	<b>Amikacine.</b>
<b>Antigène H</b>	<b>Hauch, composé de la protéine flagellaire.</b>
<b>Antigène K</b>	<b>Déterminé par les protéines capsulaires et l'antigène Pilus.</b>
<b>Antigène O</b>	<b>Ohne - comprenant le composant LPS de la paroi cellulaire.</b>
<b>ARN</b>	<b>Acide ribonucléique.</b>
<b>ATM</b>	<b>Aztreoman.</b>
<b>AUG</b>	<b>Amoxicilline+Acide Clavulanique.</b>
<b>BGN</b>	<b>Bactérie Gram Négative.</b>
<b>BLSE</b>	<b>Bêta-lactamases a Spectre Elargi.</b>
<b>CASFM</b>	<b>Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.</b>
<b>CAZ</b>	<b>Ceftazidime.</b>
<b>CMB</b>	<b>Concentration Minimale Bactéricide.</b>
<b>CMI</b>	<b>Concentration Minimale Inhibitrice.</b>
<i>E coli</i>	<b>Escherichia coli.</b>
<b>FEP</b>	<b>Cefepime.</b>
<b>H2S</b>	<b>Sulfure D'hydrogène.</b>
<b>I</b>	<b>Intermédiaire.</b>
<b>IMViC</b>	<b>I : Indole- M : Rouge de Méthyle- V : Vosges Proskauer- C : Citrate.</b>
<b>K</b>	<b>Kanamycin .</b>
<b>MH</b>	<b>Mueller Hinton.</b>
<b>NA</b>	<b>Acide nalidixique.</b>
<b>NR</b>	<b>Nitrate Réductase.</b>
<b>ONPG</b>	<b>Ortho Nitro Phényl Galactoside.</b>
<b>PLP</b>	<b>Protéines de Liaison à la Pénicilline.</b>
<b>R</b>	<b>Résistance.</b>
<b>S</b>	<b>Sensible.</b>
<b>TIC</b>	<b>Ticarcilline.</b>
<b>TOB</b>	<b>Tobramycine.</b>
<b>TSI</b>	<b>Triple Sugar Iron.</b>

## **Introduction générale**

En Algérie, on rencontre deux types de tortues. Le premier type présent sous deux taxons de l'espèce *Testudo graeca* (Tortue mauresque) sont *Testudo graeca graeca* de couleur vert-olive et la *Testudo graeca nabeulensis*. La seconde espèce est connue sous le nom de *Testudo whitei* (Kechar, 2013).

La biodiversité des tortues terrestres en Algérie se limite en une seule espèce *Testudo graeca*, de la Famille Testudinidae. Sa distribution dans l'Afrique du nord s'étend de l'ouest du Maroc à la Libye Cyrénaïque. La distribution algérienne à large bande de cette espèce s'étend sur toute la partie nord du pays, à partir de l'étage bioclimatique humide, à l'aride, et du niveau de la mer jusqu'aux zones d'altitudes de 1400 m dans l'Atlas saharien (Tiar et al., 2019).

Le régime alimentaire de *T. graeca* comprennent également une grande variété de plantes cultivées (luzerne, feuilles de pomme de terre, tomates, laitues, etc.), la tortue peut consommer occasionnellement des invertébrés (El Mouden et al., 2006). Les tortues terrestres sont pour la plupart végétariennes (phytophages).

Classification de la tortue grec (*Testudo graeca*) est : règne Animalia – embranchement Chordata – sous embranchement Vertebrata – clade Amniota – classe Reptilia – ordre Testudines – sous ordre Cryptodira – famille Testudinidae – genre *Testudo* (Kammerer, 2021).

La flore intestinale des tortues représente une variabilité: *Cellulomonas flavigena*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, et *Proteus mirabilis*, chez les adultes, les isolats présentaient une plus grande diversité et une meilleure qualité zoonotique. Il s'agissait de *Salmonella enterica* serovars Newport, Daytona et Braenderup; *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia ruckeri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio fluvialis*, *Serratia marcescens*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae*, *Hafnia alvei*, *Edwardsiella tarda* et *Citrobacter braakii* (Meriç et Tunaligi, 2016).

Les bactéries pathogènes transmissibles aux êtres humains par contact avec les tortues de compagnie est inhibée le tractus gastro-intestinal qui cause des contaminations d'environnement et d'eau qui cause des maladies bactériennes chez nous et les tortues par contact direct et indirect, les bactéries pathogènes elles sont *Salmonella spp*, *Citrobacter spp*, *Mycobacterium spp*, *Aeromonas*

*spp*, *Pseudomonas spp*, *Proteus spp*, *Providencia spp*, *Morganella spp*, *Klebsiella spp*, *Serratia spp*, *Edwardsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Stenotrophomonas spp*, *Staphylococcus spp*, *Pasteurella spp*, *Vibrio spp*, et *Escherichia coli* (**Hossain et Heo, 2021**).

Cette dernière (*Escherichia coli*) est une bactérie avec une place particulière dans le monde microbiologique car elle peut provoquer des infections graves chez l'homme et l'animal mais représente également une part importante du microbiote autochtone des différents hôtes. La transmission possible d'*E. coli* virulente et/ou résistante entre les animaux et les humains par de nombreuses voies, telles que le contact direct, le contact avec les excréments animales ou via la chaîne alimentaire, est une préoccupation majeure. *E. coli* représente également un réservoir important de gènes de résistance qui peuvent être responsables du traitement (**Poirel et al., 2018**).

En 1885, *Escherichia* décrit un micro-organisme commensal du gros intestin, une bactérie appelée *Bacterium coli* commune. En 1894 a été découvert dans une infection urinaire. Le nom *Escherichia coli* a été proposé par Castellani et Chalmers en 1919 est la même souche d'*Escherichia coli* transmis à toutes les bactéries intestinales et même à l'ensemble de la communauté bactérienne (**Grimont, 1987**).

*Escherichia coli* est un habitant naturel du gros intestin et de l'intestin grêle inférieur de tous les mammifères. Il est généralement présent en plus grand nombre chez les carnivores et les omnivores que *E coli* est excrétée dans les fèces et peut survivre dans les particules fécales, la poussière et l'eau pendant des semaines ou des mois. La détection précoce et la facilité de culture (division cellulaire toutes les 20 min à 37 °C) en font un outil de recherche pratique (**Bhatia et Ichhpujani 2008**).

Chaque bactérie a des caractères morphologiques spécifiques, *E. coli* est bacille Gram – de taille différent, la longueur (1- 3 µm) et la largeur (0,4-0,7 µm). L'infection est extra- intestinales, non sporulée, fimbriae est présent dans 80% des souches, la mobilité sous fait grâce à une ciliature péri triche et 80% des souches sont mobile et généralement les souches *E. coli* qui composée à une capsule de nature polysaccharide (**Bhatia et Ichhpujani, 2008**).

Ce micro-organisme peut être facilement cultivé dans des milieux ordinaires et ne présente aucun besoin nutritionnel complexe. Il pousse sur une large plage de température, mais 37°C c'est la température optimale. Il pousse également bien sous conditions aérobies et anaérobies. Dans les 18-24 heures Une croissance luxuriante se produit même sur des milieux sélectifs. La taille de la colonie est de 1 à 1,5 mm de diamètre, et ce sont lisse, circulaire, brillant et translucide (**Bhatia et Ichhpujani, 2008**).

*E. coli* possédant trois types d'antigènes, l'antigène O est peut être détecté en faisant bouillir ou en auto-clavant les souches pour surmonter la non-agrégation provoquée par l'antigène K a été classé en trois groupes: le type A est associé à la présence d'une capsule résistante à la chaleur (121°C pendant 2 heures), et même après ce traitement thermique l'antigène conserve sa capacité de liaison, l'antigène L est détruit en 1 heure à 100°C et perd sa capacité à éliminer les anticorps spécifiques du sérum, l'antigène B perd également son antigénicité s'il est traité à 121°C pendant 2 heure, mais conserve la capacité de se lier à anticorps spécifique. L'antigène H est généralement monophasique, rarement pour trouve dans souches bi phasiques (**Bhatia et Ichhpujani, 2008**).

L'utilisation généralisée d'antibiotiques chez les humains, les animaux domestiques, l'aquaculture et l'agriculture a conduit à leur présence accrue dans l'environnement et a créé la pression sélective nécessaire pour que certaines bactéries développent une résistance aux antibiotiques (**Piñera-Pasquino, 2006**). La résistance bactérienne est la capacité des cellules bactériennes à prévenir les effets bactériostatiques ou bactéricides des antibiotiques. L'utilisation excessive et involontaire d'antibiotiques contribue au développement de la résistance chez les bactéries. En raison de l'absorption massive, l'évolution des micro-organismes résistants au temps et des problèmes sont apparus avec ces micro-organismes résistants pour le traitement de certaines infections. De nos jours, la résistance est un problème majeur dans la voie de la synthèse de nouveaux médicaments, le développement de la résistance aux antibiotiques est un problème de santé publique majeur dans le monde entier (**Al-Musharafi et Al-Bahry, 2015**).

Les origines de la découverte des antibiotiques remontent souvent à 1929, lorsqu'Alexander Fleming reconnut l'activité antibactérienne des substances

sécrétées par *Penicillium notatum* sur des boîtes de culture contaminées. Cependant, le développement ultérieur de la pénicilline comme agent thérapeutique n'a été réalisé qu'au début des années 1940 (**Bush, 2010**).

Les antibiotiques sont des substances d'origine naturelle (biologiques), produites par des micro-organismes qui inhibent la croissance d'autres micro-organismes à faibles concentrations. Semi-synthétique ou produits en totalité par synthèse chimique (synthétique) (**Ben Youssef et al., 2015**). Le mot antibiotique (du grec anti: contre, biotikos: vie) a été utilisé pour la première fois en 1889 pour décrire des composés utilisés à des fins thérapeutiques dans les maladies bactériennes chez l'homme et l'animal (**Muylaert et Mainil, 2012**). L'effet d'antibiotique est différent selon le type d'activité soit bactériostatique (arrête la croissance de la bactérie) soit bactéricide (tue la bactérie) (**Yala et al., 2001; Van Bambeke et al., 2008**).

Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la concentration la plus faible concentration d'antibiotique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée, appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation donnée (**Muylaert, et Mainil 2012; Ben Youssef et al., 2015**).

Concentration Minimale Bactéricide (CMB) elle correspond à la plus faible concentration d'antibiotique capable de tuer de 99,99% d'une population bactérienne à partir d'un inoculum prédéfini dans un milieu de croissance spécifique et des conditions de culture standardisées et le taux de la population survivant est inférieur ou égal à 0,01% de la colonie initiale (**Muylaert, et Mainil 2012; Ben Youssef et al., 2015**).

Les antibiotiques sont classés selon plusieurs critères, selon l'origine soit des antibiotiques naturels produits par des micro-organismes tels que les champignons inférieurs et les bactéries, soit semi-synthétiques (transformation chimique de composés naturels), soit artificiels (synthèse chimique). Selon le spectre d'activité qui représente les antibiotiques à spectres larges (agit sur nombre de bactérie) et les antibiotiques à spectres étroits (agit sur certaine bactérie) (**Fair et Tor 2014; Ben Youssef et al., 2015**).

Selon le mode d'action nous avons:

Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne : c'est l'action des bêta-lactamines qui possède un noyau très affinité pour le site catalytique des PLP, enzyme essentielle à la synthèse et du remodelage du peptidoglycane (la Muréine) de la bactérie. Ces enzymes interviennent pour faire la stabilisation du peptidoglycane et sa synthèse qui assure la protection de la cellule (**Torche et Bensegueni, 2020**).

Antibiotiques inhibiteurs de la membrane cytoplasmique: les Polymyxines: Polymyxine B et Polymyxine E (colistine) assurent la perturbation (désorganisation) de la structure membranaire qui provoque la mort de la cellule (**Torche et Bensegueni, 2020**).

Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines: les antibiotiques inhibent la fonction des ribosomes contenant des sous-unités 30S ou 50S qui interagie avec la synthèse des protéines (**Torche et Bensegueni, 2020**).

Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs les antibiotiques peut bloquer l'ARN polymérase, inhibe la synthèse l'ADN, perturbe la réplication de l'ADN (**Torche et Bensegueni, 2020**).

Antibiotiques inhibiteurs des voies métaboliques chez les procaryotes (**Ben Youssef et al., 2015**). Antibiotiques anti-anaérobies certaines bactéries sont capables de vivre en anaérobie en utilisant des voies d'oxydoréduction indépendantes de l'oxygène, et peuvent atteindre des niveaux de potentiel redox nettement plus bas que chez les eucaryotes 2015) (**Ben Youssef et al., 2015**).

Toxicité des antibiotiques: ceux-ci sont fondamentalement sélectivement toxiques. Autrement dit, il est toxique pour les bactéries, mais pas pour l'organisme. Malheureusement, ce n'est pas toujours vrai (**Merad et Merad, 2001**).

Utilisation vétérinaire des antibiotiques: l'utilisation d'antibiotiques chez le bétail (les animaux sauvages ne sont pratiquement pas affectés) représente environ 60 % de la production totale d'antibiotiques et continue d'augmenter. En particulier, les tétracyclines, suivies des pénicillines et des sulfamides, sont les antibiotiques les plus couramment utilisés (**Maurin, 2024**).

La résistance aux antibiotiques selon les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions **(Muylaert et Mainil, 2012)**.

Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile (plasmide) les éléments transposables ou les intégrons (résistance extra chromosomique). La résistance peut être soit naturelle, soit acquise **(Carle 2010)**.

Les mécanismes de résistance sont divers et varient selon les bactéries; soit par la mutation de la cible qui peut entraîner une modification du site de fixation de l'antibiotique pouvant empêcher la liaison de celui-ci et donc inhiber son action. Soit par la modification de l'antibiotique; les bactéries peuvent produire une enzyme qui va modifier (en insérant un résidu chimique) ou cliver la molécule antibiotique **(Berthuin et Miras 2018)**.

La diminution de l'expression des porines de la membrane bactérienne assure la réduction de la perméabilité membranaire des antibiotiques dans la cellule **(Berthuin et Miras 2018)**.

L'efflux des antibiotiques en mettant en place un système de pompage actif hors de la cellule, la bactérie va « éjecter » l'antibiotique à l'extérieur de la cellule avant que celui-ci n'ait pu agir. Ce mécanisme nécessite toutefois de l'énergie. Il s'agit du mécanisme de résistance observé chez *Pseudomonas aeruginosa*, responsable de nombreuses infections nosocomiales **(Berthuin et Miras 2018)**.

La question qui se pose quelle est l'effet des antibiotiques sur les souches *E. coli* chez les tortues. Pour cela, nous avons opté à ce défi et réalisé ce travail qui comporte une légère recherche bibliographique; Introduction générale et une partie pratique (partie expérimentale) qui consiste à effectuer des échantillonnages, isolement et purification des souches et antibiogramme de ces souches pour étudier le profil de la résistance aux antibiotiques.



## **Partie expérimentale**

## **Chapitre 1 : Matériel et méthodes**

Notre étude est basée sur la résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées chez les tortues. Ce travail a été réalisé dans la période allant du mois d'avril jusqu'à la fin du mois mai au niveau du laboratoire de PFE (projet de fin d'étude) du département des sciences biologiques de la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'université Zaine Achour à Djelfa.

## 1- Echantillonnage :

### 1-1. Prélèvement :

Nous avons récupéré des échantillons de la matière fécale des tortues sauvages capturées dans certaines régions de Djelfa (Ain Oussera, El Mouilah, Moudjbara, Djelfa, Tlilat, Boudibe). Le prélèvement de la matière fécale elle sous fait dans laboratoire de PFE et les échantillons ont été apporté dans des boites stérile pour être analyse dans laboratoire de PFE.



**Figure 1 :** Photos d'une tortue étudiée

### 1-2. Les caractères des tortues sauvages étudiées :

- **La région d'El Mouilah :**

Sur les 6 individus récupérés nous avons effectué 6 prélèvements de la matière fécale le 20 avril 2024.

Les caractéristiques de ces tortues sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 1:** Caractéristique de tortue de la région El Mouilah.

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDEM1	563,9	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDEM2	385	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDEM3	535	Femelle	<i>Testudograeca</i>	Adulte

TDEM4	472	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDEM5	434	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDEM6	580	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

- **La région de Moudjbara :**

Sur les 12 individus nous avons effectué 12 prélèvements de la matière fécale le 19 avril 2024 et 1 mai et 5 et 7 et 8 mai 2024.

Les caractéristiques de ces tortues sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 2:** Caractéristique de tortue de la région Moudjbara.

Le 19 avril 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDM1	1021	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDM2	449,5	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDM3	1749,1	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

Le 1 mai 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDM4	1054	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDM5	26	Male	<i>Testudo graeca</i>	Jeune
TDM6	321	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

Le 5 mai 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDM7	548,1	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

Le 7 mai 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDM11	733,4	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDM12	1168,4	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

Le 8 mai 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDM13	1811,6	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDM14	1391,1	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDM15	1410,6	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

- **La région d'Ain Oussera :**

Sur les 20 individus nous avons effectué 20 prélèvements de la matière fécale le 25 et 26 avril 2024 et 1 mai 2024.

Les caractéristiques de ces tortues sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 3:** Caractéristique de tortue de la région Ain Oussera.

Le 25 avril 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDA1	1453	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA2	524	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA3	1212	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA4	962	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA5	638	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

Le 26 avril 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDA6	521	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA7	1036	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA8	540	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA9	556	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA10	546	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA11	542	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA12	1384	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

Le 1 mai 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TDA13	479	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA14	571	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA15	1092	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA16	940	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA17	527	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA18	515	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA19	710	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDA20	511	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

- **La région de Djelfa :**

Sur les 2 individus nous avons effectué 2 prélèvements de la matière fécale.

Les caractéristiques de ces tortues sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau4** : Caractéristique de tortue de la région Djelfa.

Le 22 avril 2024

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TD1	690	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

Le 29 avril 2024 :

Echantillon	Poids (g)	Sexe	Race	L'âge
TD2	1500	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

- **La région de Tlilat :**

Sur les 3 individus nous avons effectué 3 prélèvements de la matière fécale le 13 mai 2024.

Les caractéristiques de ces tortues sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 5:** Caractéristique de tortue de la région Tlilat.

Echantillon	Poids	Sexe	Race	L'âge
TDT2	1029,1	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDT3	1483,8	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDT4	461,3	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

- **La région de Boudibe:**

Sur les 3 individus nous avons effectué 3 prélèvements de la matière fécale le 13 mai 2024.

Les caractéristiques de ces tortues sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 6:** Caractéristique de tortue de la région Boudibe.

Echantillon	Poids	Sexe	Race	L'âge
TDB1	520,5	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB2	434	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB3	924,7	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB4	520,4	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB5	545,9	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB6	856	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB7	510	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB8	762,1	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB9	686,4	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB10	12463,4	Femelle	<i>Testudo graeca</i>	Adulte
TDB11	120,3	Male	<i>Testudo graeca</i>	Adulte

## 2-Enrichissement:

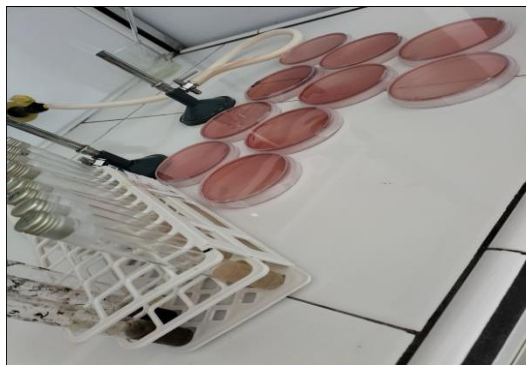
Dans un tube à vis contenant du bouillon nutritif, on additionne une quantité de la matière fécale à l'aide d'une pipette Pasteur. On mélange bien, et on incube à 37 °C pendant 18 à 24heures.



**Figure 2 :** Enrichissement dans bouillon nutritive

### **3- Isolement :**

A partir des tubes d'enrichissement, on fait ensemencement par des stries sur un milieu MacConkey puis on incube les boites pétri dans à 37 °C pendant 24 heures.



**Figure 3 :** Isolement sur gélose de MacConkey

### **4- Purification :**

Après incubation, on sélectionne les colonies caractéristiques des *Escherichia coli* puis on effectue une série de repiquage par des stries sur la gélose MacConkey à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et on incube à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

### **5- Identification bactérienne :**

#### **5-1. Examen macroscopique :**

La gélose MacConkey est un milieu sélectif pour les bactéries BGN c'est-à-dire il permet la croissance des bactéries Gram négative tout en inhibant le poussé des autres bactéries. Nous avons recherché l'aspect *E. coli* qui est caractérisé par des colonies roses et rondes et lisses.

#### **5-2. Examen microscopique:**

**Coloration de Gram:(Boussena,2020)**



C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement (mode d'assemblage), la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet. Celles qui possèdent une enveloppe externe sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram-), alors que celles qui n'en possèdent pas vont retenir le colorant (Gram+).

### Le Protocol :

- On dépose une goutte d'eau distillée sur la lame puis on prélève une colonie bactérienne isolée à l'aide d'une pipette Pasteur puis on passe la lame sur le bec bunsen pour fixer l'échantillon.
- On dépose quelques gouttes du violet de gentiane pendant 1 min.
- Ajouter du Lugol et appliquer pendant 1 min.
- On traite par l'alcool pendant 30 secondes (décoloration par l'alcool).
- Recoloration par Fuschine pendant 1 min puis.

L'observation se fait en ajoutant une goutte de l'huile à immersion et au plus fort grossissement (grossissement : objectif x 100) en lumière blanche (lumière maximale).



**Figure 4:**Préparation de la coloration de Gram

### 5-3. Etude des caractères biochimiques: (Benseghir, 2021)

Les tests biochimiques qui permettent l'identification précise des espèces bactériennes comme le métabolisme respiratoire et glucidique et protéiques.

### Préparation de la suspension bactérienne:

La suspension bactérienne est préparée en dissociant une colonie dans de l'eau physiologique, puis on mélange pour homogénéiser.

### **Fermentation du lactose et glucose et la production de gaz et H<sub>2</sub>S: (Issame et Anis, 2017)**

#### **Principe :**

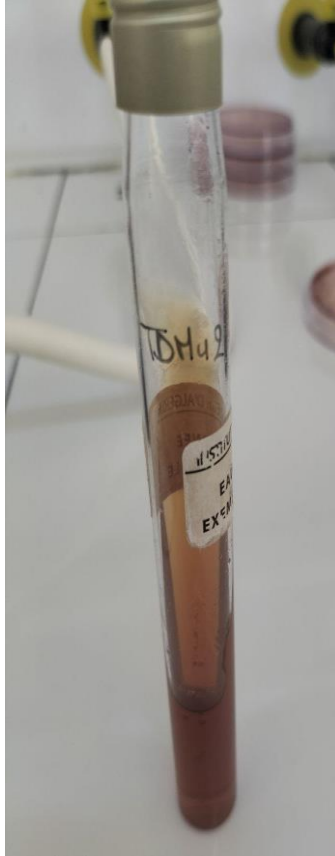
Milieu TSI (Triple Sugar Iron) c'est un milieu solide non sélectif différentiel en pente utilisé pour différencier les BGN sur la base de leur capacité de fermentation du glucose, du lactose et de leur capacité de production de sulfures et du gaz.

#### **Mode opératoire :**

A l'aide une pipette Pasteur on prélève des gouttes de la suspension bactérienne et ensementer le culot par piqure centrale puis on fait ensementer par des stries a la surface de la pente puis en incubée dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

#### **La lecture :**

- La coloration jaune du culot indique la fermentation de glucose donc la bactérie est dite Glucose+.
- La coloration jaune de la pente montre la dégradation de lactose donc la bactérie est dite Lactose+.
- Le décollement de la gélose indique la production de gaz, la bactérie est appelée ainsi, Gaz+.
- L'absence de noircissement de milieu indique l'absence de la réduction de thiosulfate de sodium en H<sub>2</sub>S, donc set H<sub>2</sub>S-.



**Figure 5:** Test Fermentation du lactose et glucose et la production de gaz et H<sub>2</sub>S

**Test de citrate de Simmons: (Boussena, 2020).**

**Principe :**

Ce milieu est un exemple de milieu synthétique, c'est-à-dire de milieu dont la composition, qui est complexe, est connue exactement tant qualitativement que quantitativement.

Dans ce milieu de citrate C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub><sup>3-</sup> est l'unique source de carbone.

**Mode opératoire:**

A l'aide une pipette Pasteur on prélève des gouttes de la suspension bactérienne et ensementer par des stries a la surface de la pente puis on incube dans l'étuve à 37 C° pendant 24 heures (1 jouer) à 7 jouer.

**La lecture :**

- Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +.

- Pas de virage de l'indicateur de pH: il n'y a pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture. La souche est citrate de Simmons -.



**Figure 6:** Milieu citrate de Simmons.

### **Production d'indole: (Maria et Mac 2009)**

#### **Principe:**

Le test d'indole vérifie la capacité d'un organisme à dégrader l'acide aminé tryptophane et à produire de l'indole. Il est utilisé dans le cadre des procédures IMViC, une batterie de tests conçus pour distinguer les membres de la famille des entérobactéries

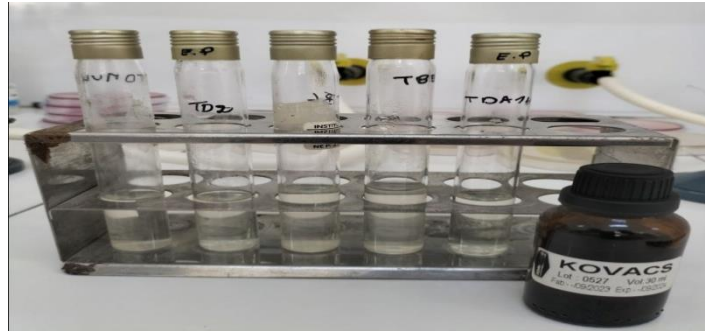
#### **Mode opératoire :**

Dans un tube à vis qui contenant l'eau peptone exemple d'indole, on additionne des gouttes de la suspension bactérienne puis incubée dans l'étuve à 44°C pendant 24 heures.

#### **La lecture :**

Après l'incubation on ajoute 5 gouttes de réactif Kovacs:

- **Présence d'anneau rouge:** indole +
- **Présence d'anneau rouge (absence d'anneau rouge):** Indole-



**Figure 7:** Test de production d'indole

### **Test de catalase: (Boussena, 2020)**

#### **Principe:**

Une enzyme décomposant l'eau oxygénée en eau et en oxygénée gazeux.



#### **Mode opératoire :**

Prendre une lame et déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et prélever une colonie à l'aide pipette Pasteur et dissocier la colonie dans la goutte.

#### **La lecture :**

Le dégagement des bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme.

### **Test nitrate-réductase: (Boussena, 2020)**

#### **Principe:**

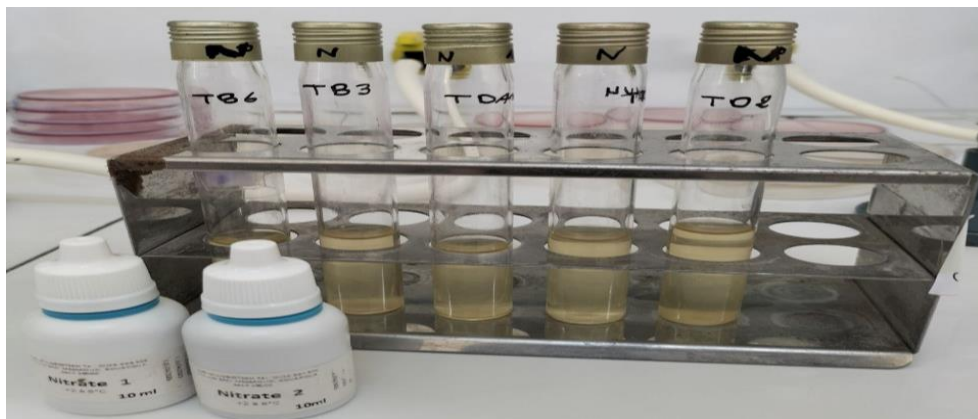
En absence d'oxygène, certaines bactéries peuvent obtenir leur énergie par respiration anaérobie. Cette respiration anaérobie est liée à l'activité d'enzymes localisées dans la membrane plasmique bactérienne.

#### **Mode opératoire :**

Dans un tube à vis qui contenant bouillon nitraté on additionne des gouttes de la suspension bactérienne puis incubée dans l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

**La lecture :**

- Après incubation on ajoute trois gouttes d'acide parasulfanilique en milieu acétique (réactif NIT 1) puis une à trois d'alpha-naphtylamine en milieu acétique (réactif NIT2). **Le milieu devient rouge:** présence de nitrites. Donc la bactérie possède un nitrate réductase (Résultat NR+).
- **Le milieu reste inchangé :** on ajoute alors de la poudre de zinc qui joue le même rôle que le nitrate réductase vis à vis des nitrates.
- **Coloration rouge :** on a donc eu transformation des nitrates en nitrites par le zinc. La bactérie ne possédait pas cette enzyme (Résultat NR-)
- **Pas de coloration :** les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme. Résultat NR+



**Figure 8:** Test nitrate réductase

**Test oxydase: (Boussena, 2020)****Principe:**

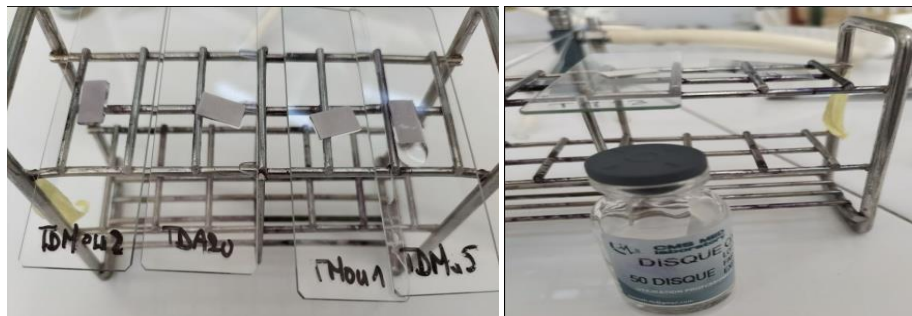
Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à produire le cytochrome-oxydase pour oxyder un réactif incolore (la N, N'- diméthyl-paraphénylènediamine) en un dérivé rose violacé. Le test est un utile pour orienter l'identification des BGN.

**Mode opératoire:**

Placer un disque d'oxydase sur une lame à l'aide une pince flambée puis on additionne des gouttes de la suspension bactérienne sur les disques et laisse 30 seconde pour fait la lecture.

**La lecture :**

- Si la coloration violette donc Oxydase.
- S'il n'y a pas de coloration donc Oxydase -.



**Figure 9 :** Test d'oxydase

**Test ONPG (o-nitrophényl- $\beta$ -D-galactopyranoside):****Principe:**

Est utilisé pour déterminer la présence ou absence de l'enzyme  $\beta$ -galactosidase dans un organisme. La présence de deux enzymes, perméase et  $\beta$ -galactosidase, est nécessaire pour démontrer la fermentation du lactose. La perméase permet au lactose d'entrer dans la cellule bactérienne. Chez les bactéries qui fermentent le lactose, la dégradation du lactose en glucose et galactose implique l'enzyme bêta-galactosidase.

**Mode opératoire:**

Addition un disque d'ONPG dans un tube à l'aide une pince flambée puis on additionne la suspension bactérienne sur les disques et incubée dans l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

**La lecture :**

- **Résultat positif** : couleur jaune (indique le fermenteur de lactose).
- **Résultat négatif** : incolore/jaune pâle (indique le lactose non fermenteur).

## 6-Antibiogramme

L'antibiogramme est un examen permettant de tester l'effet des antibiotiques sur les bactéries, ce test a été réalisé au laboratoire par la méthode de diffusion sur la gélose de Mueller-Hinton (MH) selon les recommandations de la société française de microbiologie (CA-SFM-Vet, 2024)

### Mode opératoire:

A partir de la suspension bactérienne on introduit l'écouvillon dans le tube de la suspension puis on tourne l'écouvillon à la paroi du tube.

On ensemence la surface de la gélose par des stries séries en tournant la boîte de 45° dans les trois directions.

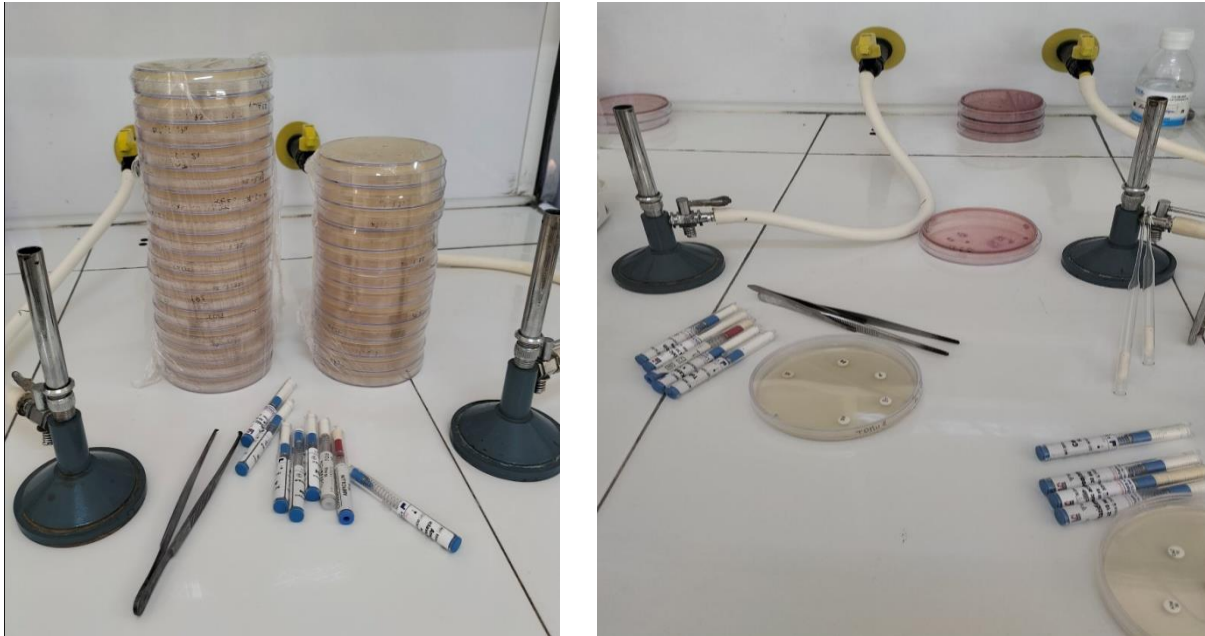
On dispose les disques d'antibiotiques sur la gélose à l'aide d'une pince stérile.

Incubée les boîtes pétries dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation on mesure les diamètres des zones d'inhibition.

L'interprétation des résultats se fait selon les recommandations de la société française de microbiologie (CA-SFM-vet, 2024).





**Figure 10:** Antibiogramme sur gélose MH

### 7- BLSE (bêta-lactamine à spectre élargi) :

BLSE (bêta-lactamine à spectre élargi) c'est un enzyme hydrolysant les pénicillines et céphalosporines (C1G, C2G, C3G) et l'aztréoname mais est inactive avec céphamycine et carbapénème. Les BLSE sont isolées principalement chez les entérobactéries (**Jarlier et al., 1988**)

#### Principe :

Selon les recommandations de la Commission d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, dans une boîte pétri qui contenant gélose MH on met le disque AMC, centre-à-centre les disques CAZ et CTX à distance de 25mm. Dans l'autre côté le disque AMC est placé centre à centre avec les disques FEP et ATM à distance de 30mm.

#### La lecture:

La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie dite en « bouchon de champagne » entre CAZ, CTX, FEP avec le disque ATM.

**Résultat**

### 1-Échantillonnage et prélèvements:

Durant notre étude, nous nous sommes intéressés à la recherche de souches d'*E coli* résistantes aux antibiotiques chez les tortues sauvages dans la région de la wilaya de Djelfa pendant une durée de période estimée de deux mois (avril- mai).

Nous avons prélevé 54 échantillons.

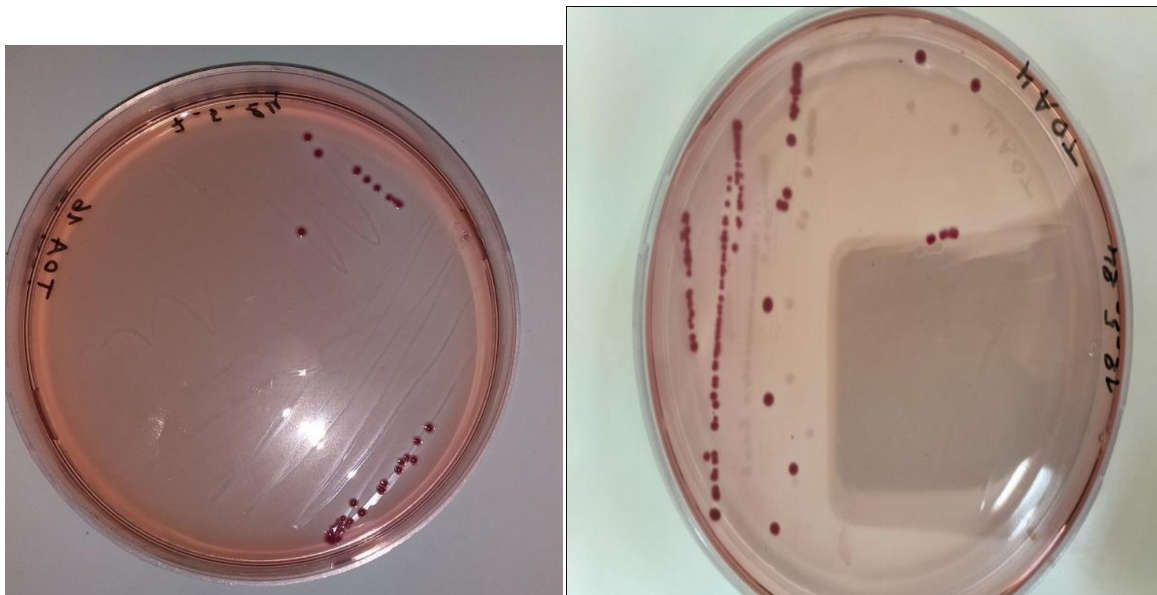
**Tableau 7:** Présentation de la distribution des échantillons.

Lieur de capture des tortues	Echantillon	Nombre totale	Nombre des femelles	Nombre des males
El Mouilah	TDEM	6	1	5
Moudjbara	TDM	12	4	8
Ain Oussera	TDA	20	7	13
Djelfa	TD	2	0	2
Tlilat	TDT	3	1	2
Boudibe	TDB	11	3	8

### 2- Analyse bactériologique :

#### 2-1. Etude Macroscopique :

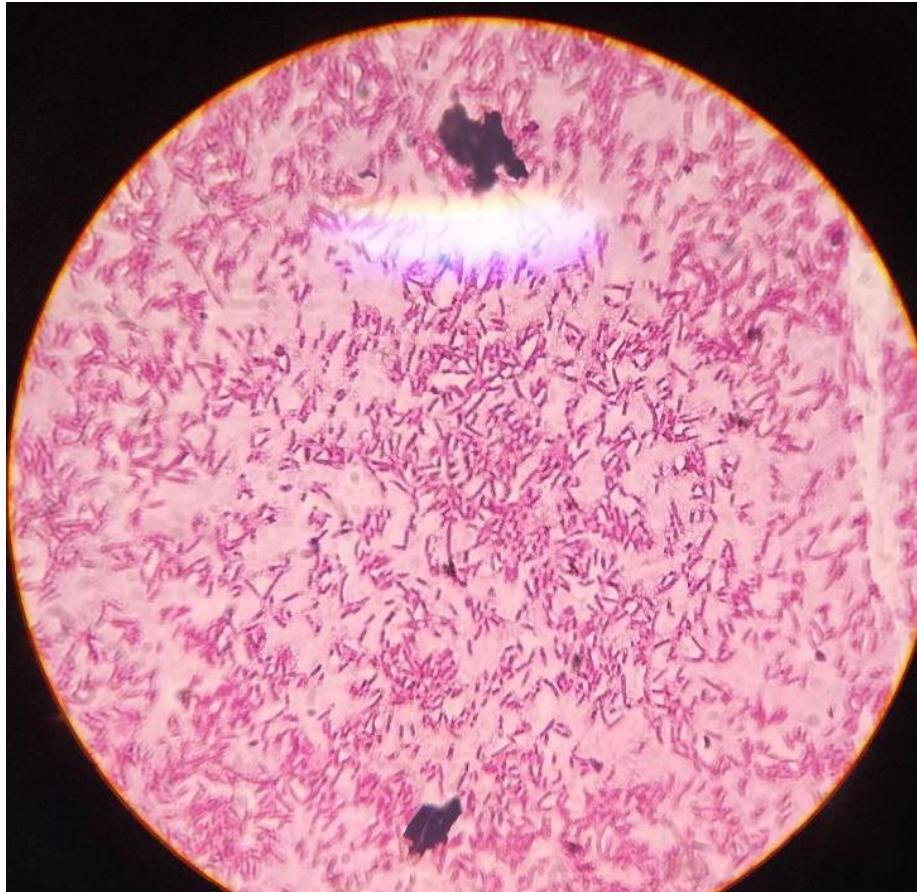
La purification sur le milieu MacConkey nous a permis d'obtenir des colonies de couleur rose, ronde, lisse ces qui représenté les caractères des souches *E. coli*.



**Figure 11:** Exemple de résultat d'isolement et de purification

## 2-2. Etude Microscopique :

A partir la coloration de Gram on fait observation dans la microscopie optique on observe des cellules de forme bacille et la couleur rose alors sont des bactéries Gram négative.



**Figure 12:** observation après coloration de Gram en (grossissement\* 1000) (**origine 2024**)

## 2-3. Identification des tests biochimiques :

Après les tests d'indentification biochimique nous avons obtenir les résultats suivant :

**Tableau 8:** Les caractères biochimiques des souches *E. coli*.

Les souches	Indole	Nitrate	Glucose	Lactose	Gaz	H2S	Citrate	Catalase	Oxydase	ONPG
Les caractères	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+

D'après les résultats obtenir nous avons prélève 54 échantillons, ce qui a permet d'isoler 46 souches.

A partir des 46 souches, nous avons identifié 28 souches comme souches d'*E. coli* et 18 comme autres souches bactériennes (*Proteus spp* et *Klebsiella spp*).

#### 2-4 Répartition des souches *E. coli* selon l'origine du prélèvement:

**Tableau 9:** Répartition des souches selon l'origine des prélèvements.

	TDEM	TDM	TDA	TD	TDT	TDB	Totale
Nombre de prélèvement	6	12	20	2	3	11	54
Nombre des souches isolées	6	10	17	2	3	8	46
Nombre des souches <i>E. coli</i>	4	6	9	0	3	6	28
Le taux des souches isolées	6/6	10/12	17/20	2/2	3/3	8/11	46/54
Le taux des souches <i>E. coli</i>	4/6	6/10	9/17	0/2	3/3	6/11	28/46

Le taux des souches *E. coli* dans la région El Mouilah est plutôt moyen de pourcentage 66,66%. Le taux des souches *E. coli* dans la région Moudjbara est plutôt moyen de pourcentage 60%. Le taux des souches *E. coli* dans la région Ain Oussera est moyen de pourcentage 52,94%. Le taux des souches *E. coli* dans la région Djelfa est faible de pourcentage 0%. Le taux des souches *E. coli* dans la région Tlilat est plus élève de pourcentage 100%. Le taux des souches *E. coli* dans la région Boudibe est moyen de pourcentage 54,54%.

## 2-5- Répartition des souches *E. coli* selon le sexe:

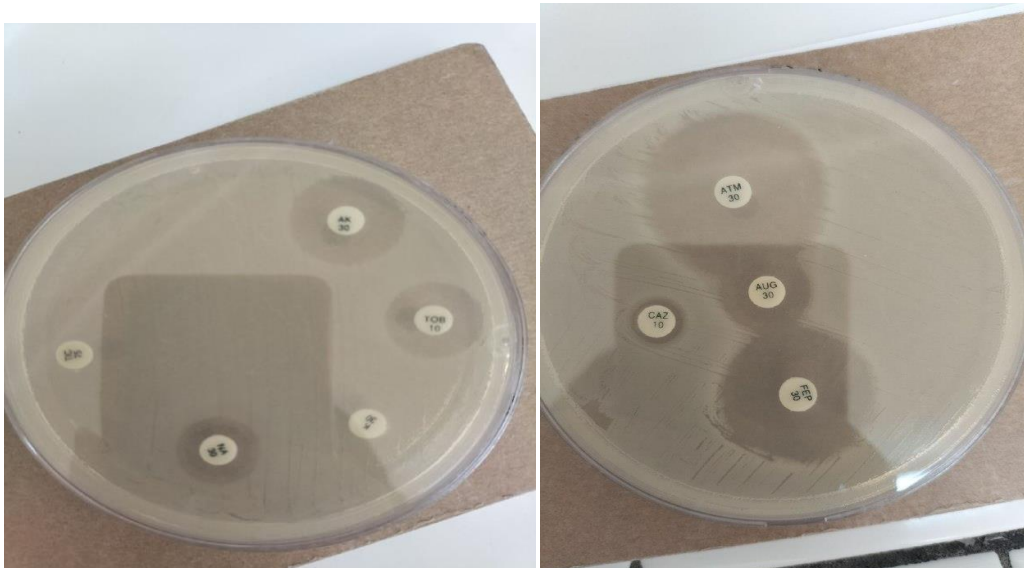
**Tableau 10:** Répartition des souches *E. coli* selon le sexe.

Le sexe	Les souches <i>E. coli</i>
Male	19
% Male	67,85%
Femelle	9
% Femelle	32,14%

Nous remarquons que le nombre des souches *E. coli* est plus grands chez male de pourcentage 67,85% par rapport les femelles 32,14%.

## 3- Etude la résistance et la sensibilité des antibiotiques:

### 3-1 Antibiogramme :



**Figure 1:** Résultat d'antibiogramme d'une souche (Originale, 2024).

**Tableau 11:** Profile de la résistance et la sensibilité des souches *E. coli* isolées aux antibiotiques.

	ATM	AUG	FEP	CAZ	AN	TIC	NA	K	TOB
TDEM1	S	R	I	R	S	R	S	R	S
TDEM2	S	R	I	R	S	R	R	R	S
TDEM3	S	R	I	R	S	R	S	R	S
TDEM5	I	R	R	R	R	R	S	R	S
TDM1	I	R	I	R	R	R	S	R	S
TDM7	S	R	S	R	S	S	S	I	R
TDM12	S	R	I	R	S	R	S	R	S
TDM13	S	R	R	R	S	R	S	R	S
TDM14	S	S	S	R	S	S	S	R	S
TDM15	S	R	I	R	S	S	S	R	S
TDA4	S	R	R	R	S	R	S	R	S
TDA6	S	R	I	R	S	S	S	R	S
TDA7	S	R	I	R	S	S	S	R	S
TDA9	I	R	I	R	S	R	S	R	S
TDA10	S	R	I	R	R	R	S	R	R
TDA11	S	R	S	R	S	R	S	R	S
TDA15	I	R	I	R	S	S	S	R	R
TDA16	S	R	S	R	S	S	S	R	R
TDA20	I	R	I	R	S	R	R	R	S
TDT2	S	R	S	R	R	S	R	R	S
TDT3	S	R	S	R	S	R	S	R	R
TDT4	S	R	S	R	S	R	S	R	S
TDB3	S	R	S	R	S	S	S	R	S
TDB5	S	R	I	R	R	R	S	R	S
TDB6	S	R	R	R	S	S	S	R	S
TDB8	S	R	S	R	R	R	S	R	R
TDB9	S	R	S	R	R	S	S	R	S
TDB11	S	R	S	R	S	R	S	R	S

**R:** Résistante, **S:** Sensible, **I:** Intermédiaire.

Les résultats des tests antibiogrammes des souches *E. coli* observés sont comme suite:

- Les souches *E. coli* présentant résistance totale aux antibiotiques : Céftazidime.
- Certaines souches d'*E. coli* sont sensibles à ces antibiotiques : Céfépime, Aztreonam, Amikacine, Ticarcilline, Acide Nalidixique, Tobramycine.
- Certaines souches d'*E. coli* présentent une résistance vis-à-vis des antibiotiques : Kanamycine, Amoxicillin- acide clavulanique, Ticarcilline.

### 3-2 Distribution des souches *E. coli* selon l'origine de la résistance aux antibiotiques :

**Tableau 12:** Répartition de taux des souches selon l'origine et la résistance aux antibiotiques.

	ATM	AUG	FEP	CAZ	AN	TIC	NA	K	TOB
TDEM	0/4	4/4	¼	4/4	¼	4/4	¼	4/4	0/4
TDEM%	0%	100%	25%	100%	25%	100%	25%	100%	0%
TDM	0/6	5/6	1/6	6/6	1/6	4/6	0/6	5/6	1/6
TDM%	0%	83,3%	16,6%	100%	16,6%	66,66%	0%	83,3%	16,66%
TDA	0/9	9/9	1/9	9/9	1/9	5/9	1/9	9/9	3/9
TDA%	0%	100%	11,11%	100%	11,11%	66,66%	11,11%	100%	33,33%
TDT	0/3	3/3	0/3	3/3	1/3	2/3	1/3	3/3	1/3
TDT%	0%	100%	0%	100%	33,33%	55,55%	33,33%	100%	33,33%
TDB	0/6	6/6	1/6	6/6	3/6	3/6	0/6	6/6	1/6
TDB%	0%	100%	11,11%	100%	50%	50%	0%	100%	16,66%

Nous avons remarqué une résistance totale :

- **Amoxicillin- acide clavulanique** dans les tortues: El Mouilah - Ain Oussera - Tlilat - Boudibe.
- **Céftazidime** dans les tortues: El Mouilah - Moudjbara -Ain Oussera – Tlilat -Boudibe.
- **Ticarcilline** dans les tortues: El Mouilah.
- **Kanamycine** dans les tortues: El Mouilah - Ain Oussera – Tlilat - Boudibe.

Par contre nous remarquons la sensibilité totale :

- **Aztreoname** dans les tortues: Tlilat - Boudibe.
- **Céfépime** dans les tortues: Tlilat.
- **Acide Nalidixique** dans les tortues: Moudjbara - Boudibe.
- **Tobramycine** dans les tortues : El Mouilah.

### 3-3 Distribution de la résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* selon le sexe:



**Tableau 13:** Répartition de la résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* selon le sexe.

	ATM	AUG	FEP	CAZ	AN	TIC	NA	K	TOB	Totale
Femelle	0	8	1	9	1	6	1	9	2	9
Femelle%	0	88,88	11,11	100	11,11	66,66	11,11	100	22,22	100
Mal	0	19	3	19	6	11	2	18	4	19
Mal %	0	100	15,78	100	31,57	57,89	10,52	94,73	21,05	100

On remarque que la résistance aux antibiotiques chez les males est plus forte par rapporte les femelles aux antibiotiques Céfépime, Amikacine, Amoxicilline-acide clavulanique et moins résistance pour Kanamycine et Acide Nalidixique et Ticarcilline et Tobramycine mais la résistance au Céfétazidime est le même.

### 3-4 La résistance aux antibiotiques :

**Tableau 14:** Profile de la résistance aux antibiotiques utilisés sur les souches *E. coli*.

La famille	Les antibiotiques	Nombre des souches résistés
Bêta-lactamine	AUG	27
	ATM	0
	FEP	4
	CAZ	28
	TIC	17
Aminoside	AN	6
	K	27
	TOB	6
Quinolone	NA	3

Les antibiotiques utilisés au cours de notre étude représentent 5 antibiotiques de la famille bêta-lactamine et 3 antibiotiques de la famille Aminoside et un seul antibiotique de la famille Quinolone, ces antibiotiques a été testes sur 28 souches d'*E. coli* les résultats suivants :

- Pour les bêta-lactamine : les souches présentent un grand taux de résistance par rapport à la Céfétazidime et Amoxicillin- acide clavulanique et Ticarcilline

contrairement autres antibiotiques (Aztreonam et Céfépime), le taux de la sensibilité est grand.

- Pour les Aminoside : le taux de la résistance est fort pour Kanamycine par contre le taux de la sensibilité aux antibiotiques est grand pour Amikacine, Tobramycine.
- Pour Quinolone: Le taux de la sensibilité aux antibiotiques est grand avec l'acide Nalidixique.

### 3-5 Phénotypes de la résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées:

**Tableau 15:** Phénotype de la résistance aux antibiotiques sur les souches *E. coli*.

Les souches	Phénotype de résistance	Nombre	Pourcentage
TDEM1	AUG –CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDEM2	AUG –CAZ- TIC- NA- K	5/9	55,55
TDEM3	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDEM5	AUG- FEP- CAZ- AN- TIC- K	6/9	66,66
TDM1	AUG- CAZ- AN- TIC- K	5/9	55,55
TDM7	AUG- CAZ-TOB	3/9	33,33
TDM12	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDM13	AUG- FEP- CAZ- TIC- K	5/9	55,55
TDM14	CAZ- K	2/9	22,22
TDM15	AUG –CAZ- K	3/9	33,33
TDA4	AUG –FEP- CAZ- TIC- K	5/9	55,55
TDA6	AUG- CAZ- K	3/9	33,33
TDA7	AUG –CAZ- K	3/9	33,33
TDA9	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDA10	AUG- CAZ- AN- TIC- K- TOB	6/9	66,66
TDA11	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDA15	AUG- CAZ- K	3/9	33,33
TDA16	AUG- CAZ- K- TOB	4/9	44,44
TDA20	AUG- CAZ- TIC- NA- K- TOB	6/9	66,66
TDT2	AUG- CAZ- NA- K	4/9	44,44
TDT3	AUG- CAZ -TIC - K –TOB	5/9	55,55
TDT4	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDB3	AUG- CAZ- K	3/9	33,33
TDB5	AUG- CAZ- AN- TIC- K	5/9	55,55

TDB6	AUG –FEP- CAZ- K	4/9	44,44
TDB8	AUG -CAZ -AN -TIC -K- TOB	6/9	66,66
TDB9	AUG- CAZ- AN- K	4/9	44,44
TDB11	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44

### 3-6 Répartition des phénotypes de la résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées selon le sexe :

**Tableau 16:** Répartition des phénotypes de la résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées selon les femelles.

Les souches	Phénotype de résistance	Nombre	Pourcentage
TDEM3	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDM1	AUG- CAZ- AN- TIC- K	5/9	55,55
TDM12	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDM14	CAZ- K	2/9	22,22
TDA4	AUG –FEP- CAZ- TIC- K	5/9	55,55
TDA7	AUG –CAZ- K	3/9	33,33
TDA15	AUG- CAZ- K	3/9	33,33
TDA20	AUG- CAZ- TIC- NA- K- TOB	6/9	66,66
TDT3	AUG- CAZ -TIC – K- TOB	5/9	55,55

**Tableau 17:** Répartition des phénotypes de la résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées selon le sexe mal.

Les souches	Phénotype de résistance	Nombre	Pourcentage
TDEM1	AUG –CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDEM2	AUG –CAZ- TIC- NA- K	5/9	55,55
TDEM5	AUG- FEP- CAZ- AN- TIC- K	6/9	66,66
TDM7	AUG- CAZ-TOB	3/9	33,33
TDM13	AUG- FEP- CAZ- TIC- K	5/9	55,55
TDM15	AUG –CAZ- K	3/9	33,33
TDA6	AUG- CAZ- K	3/9	33,33
TDA9	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDA10	AUG- CAZ- AN- TIC- K- TOB	6/9	66,66

TDA11	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDA16	AUG- CAZ- K- TOB	4/9	44,44
TDT2	AUG- CAZ- NA- K	4/9	44,44
TDT4	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44
TDB3	AUG- CAZ- K	3/9	33,33
TDB5	AUG- CAZ- AN- TIC- K	5/9	55,55
TDB6	AUG -FEP- CAZ- K	4/9	44,44
TDB8	AUG -CAZ -AN -TIC -K- TOB	6/9	66,66
TDB9	AUG- CAZ- AN- K	4/9	44,44
TDB11	AUG- CAZ- TIC- K	4/9	44,44

### 3-7 Les résultats généraux :

**Tableau 18:** Les résultats généraux.

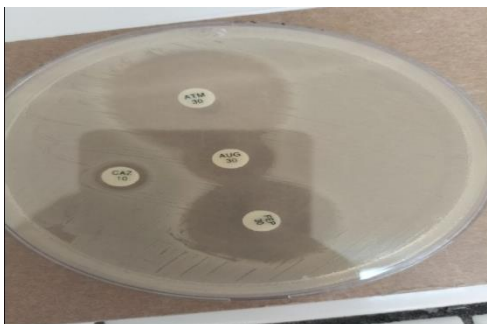
Les antibiotiques	Nombre des souches isolées	Nombre des souches résistantes	Nombre des souches sensibles	Nombres des souches intermédiaires	Le taux de la résistance aux antibiotiques	Pourcentage de la résistance aux antibiotiques
ATM	28	0	23	5	0/28	0
AUG	28	27	1	/	27/28	96,43
FEP	28	4	11	13	4/28	14,29
CAZ	28	28	/	/	28/28	100
AN	28	7	21	/	7/28	25
TIC	28	17	11	/	17/28	60,71
NA	28	3	25	/	3/28	10,71
K	28	27	/	1	27/28	96,43
TOB	28	6	22	/	6/28	21,42

A partir des résultats de la résistance aux antibiotiques le taux de la résistance est élevé pour les antibiotiques Ceftriaxone et Amoxicilline+Acide Clavulanique et Kanamycine, et le taux de la résistance moyen pour Ticarcilline, mais le taux de la résistance est moins pour les antibiotiques Aztreonam et Céfépime et Acide nalidixique et Tobramycine.

### 3-8 Les résultats du test de synergie

**Tableau 19:** Les résultats du test de synergie des souches *E. coli*.

	ATM	AUG	FEP	CAZ	Image de synergie
TDEM1	S	R	I	R	-
TDEM2	S	R	I	R	+ entre ATM et AUG
TDEM3	S	R	I	R	+ entre ATM et AUG
TDEM5	I	R	R	R	-
TDM1	I	R	I	R	-
TDM7	S	R	S	R	-
TDM12	S	R	I	R	-
TDM13	S	R	R	R	-
TDM14	S	S	S	R	-
TDM15	S	R	I	R	+entre ATM et AUG et FEP
TDA4	S	R	R	R	-
TDA6	S	R	I	R	-
TDA7	S	R	I	R	-
TDA9	I	R	I	R	-
TDA10	S	R	I	R	-
TDA11	S	R	S	R	-
TDA15	I	R	I	R	+ entre ATM et AUG
TDA16	S	R	S	R	-
TDA20	I	R	I	R	-
TDT2	S	R	S	R	-
TDT3	S	R	S	R	-
TDT4	S	R	S	R	-
TDB3	S	R	S	R	+ entre ATM et AUG
TDB5	S	R	I	R	-
TDB6	S	R	R	R	-
TDB8	S	R	S	R	-
TDB9	S	R	S	R	+ entre ATM et AUG et FEP
TDB11	S	R	S	R	+ entre ATM et AUG



**Figure 14: Image de synergie**

## **Discussion**

Les souches *d'Escherichia coli* isolées de la matière fécale des tortues elles ont montré des taux de la résistante élevée pour les antibiotiques chez Céftazidime et Amoxicillin- acide clavulanique et Kanamycine. et le taux de résistance moyenne pour l'antibiotique chez Ticarcilline, les taux de résistance est faible pour les antibiotiques chez Céfépime et Amikacine et Acide Nalidixique et Tobramycine et Aztreoname.

L'étude la résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées chez les tortues c'est la première étude en Algérie.

Le taux des souches résistantes à l'Amoxicilline + Acide clavulanique est plutôt élevée, estimé à (96,43%) mais il est plus élevé par rapport au résultat d'étude (**Gambino et al., 2021**).

Le taux des souches *d'Escherichia coli* isolées présentant une résistance élevée au antibiotique Kanamycine estimée à (96,43%) dans laquelle l'étude de la société américaine de la microbiologie est montré que le taux de résistance d'antibiotique est estimé (100%). Pour l'antibiotique Tobramycine le taux de résistance est estimé (21,42%) et plus faible par rapport l'étude menée (**Díaz et al., 2006**) de pourcentage (100%).

Le taux des souches *d'Escherichia coli* isolées présentant le taux de résistance moyen au antibiotique Ticarcilline estimé à (60,71%) mais elle est plus élevée par rapport au résultat d'étude Bio-one menée par **Rasmussen et al., 2017** qui est d'environ (2,5%) (**Rasmussen et al., 2017**).

Les résultats obtenus ont montré que le taux des isolats des souches *d'Escherichia coli* résistantes à Amikacin est plutôt faible, estimé à (25%). Mais elle est élevée par rapport au résultat d'étude menée par (**Dec et al., 2022**) mais pour l'étude de (**Gambino et al., 2021**) le taux de résistance est (0%).

Le taux des souches *d'Escherichia coli* isolées présentant le taux de résistance faible au antibiotique Acide Nalidixique estimé à (10,71%) il est plus faible par rapport l'étude (**Satapathy et al., 2016**).

En Algérie les médecins utilisent les antibiotiques Aztreonam et Céfépime et Céftazidime. C'est pour cela nous avons trouvé le taux de la résistance total pour Céftazidime (100%) l'antibiotique Céfépime le taux de la résistance est plutôt faible (14,29%), mais pour



l'antibiotique Aztreonam le taux de la résistance est nul. Donc la résistance totale chez l'antibiotique Céfotaxime est due à l'utilisation de cet antibiotique dans le domaine médical.

L'utilisation généralisée d'antibiotiques chez les humains, les animaux domestiques, l'aquaculture et l'agriculture a conduit à leur présence accrue dans l'environnement et a créé la pression sélective nécessaire pour que certaines bactéries développent une résistance aux antibiotiques (**Piñera-Pasquino, 2006**).

Les populations fauniques sont très mobiles et avoir de nombreuses sources d'exposition potentielles (**Wheeler et al., 2012**).

La densité de la population humaine et les modes d'utilisation des antibiotiques peuvent également contribuer aux variations des échanges bactériens et à la prévalence de bactérie résistante dans les populations sauvages. Par conséquent, la proximité et les niveaux d'exposition peuvent créer un effet de gradient de résistance. Les modes de transport des bactéries varient selon le site et l'espèce, la variation de la source d'exposition naturelle (p. ex., chevauchement avec d'autres espèces sauvages endémiques ou humaines (**Wheeler et al., 2012**).

Les antibiotiques et les bactéries résistantes aux antibiotiques sont libérés en quantités variables dans l'environnement en raison de l'utilisation accrue et parfois aléatoire des antibiotiques dans les domaines; médical, vétérinaire, aquacole et agricole (**Piñera-Pasquino, 2006**).

La contamination de l'environnement par des bactéries résistantes traduit l'impact à plus long terme de ces phénomènes (**Guillot, 1989**).

La consommation d'antibiotiques présenterait des inconvénients pour l'organisme, les antibiotiques ingérés par l'animal s'accumuleraient dans certains tissus tels que les muscles et le foie (**Vachel et Février, 1952**).

Le lien entre l'usage d'antibiotiques et l'émergence d'une résistance bactérienne est clair: le recours indiscriminé aux antibiotiques favorise l'émergence d'une résistance bactérienne. Usage inapproprié d'antibiotiques (L'usage abusif des antibiotiques ou leur utilisation inadéquate est principalement responsable de l'émergence de la résistance

microbienne, et celle-ci augmente à l'échelle mondiale). L'utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agro-alimentaire contribue au fardeau environnemental de la résistance (**Carle, 2010**).

**Conclusion**

## Conclusion :

Au cours de notre travail, nous avons isolées 28 *Escherichia coli* à partir de 54 échantillons de matière fécale des tortues dans plusieurs régions dans wilaya de Djelfa, puis étudier leur résistance aux 3 familles d'antibiotiques : Bêta-lactamines (Céftazidime, Amoxicillin- acide clavulanique, Ticarcilline, Aztreoname, Céfépine), Aminosite (Kanamycine, Amikacine, Tobramycine), Quinolone (Acide Nalidixique).

Pour la famille des bêta-lactamines, les souches présentent une résistance totale à la Céftazidime (100%), et forte résistance à l'Amoxicillin- acide clavulanique (96.43%) et Ticarcilline (60.71%) et une faible résistance aux Céfépine (14.29%) et absence la résistance pour Aztreoname. La résistance à la famille des Aminosite il est très élevé Kanamycine (96.43%) et faible pour Amikacine (25%) et Tobramycine (21.42%). Par contre les antibiotiques de famille des Quinolone la résistance est faible Acide Nalidixique (10.71%).

Après avoir mené cette étude, nous avons constaté qu'il existe plusieurs facteurs qui peuvent rendre *E. coli* résistant aux antibiotiques.

Il comprend:

- Utilisation inappropriée d'antibiotiques.
- Transmission de souches résistantes *d'E. coli* à partir d'autres sources, telles que l'environnement ou d'autres animaux.
- Conditions environnementales (telles que la contamination de l'eau et des aliments) Pour atténuer ce problème, la sur utilisation d'antibiotiques doit être évitée.

Il est important que les tortues maintiennent un environnement propre et fournissent une nutrition adéquate pour renforcer leur système immunitaire.

Les tortues sont désormais des animaux de compagnie très populaires qui entrent en contact direct avec les humains, notamment les enfants.

Par conséquent, pour réduire le risque, les propriétaires de tortues et les vétérinaires doivent être sensibilisés à l'importance de la prévention.

## **Les références bibliographiques**

A

- **Al-Musharafi, Mahmoud, et Al-Bahry. 2015.** « Heavy Metals and Antibiotic Resistant Bacteria in Green Turtles Are Indicators of Environmental Pollution ». *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering*. **9(4):4.**

B

- **Benhidi Issame, et Anis Malak. 2017.** « Compte-rendu de travaux pratiques de Bactériologie ». *Université Hassan II Casablanca Faculté de Médecine et de Pharmacie*,30p.
- **Benseghir. 2021.** « Cours techniques d'analyses des produits pathologiques Partie III: Tests biochimiques utilisés dans l'identification des bactéries ». *Université de Batna* 2.15p.
- **Benyoussef, Samir, Jamel Belguith, et Rim Hadiji. 2015.** « Généralités sur les anti-infectieux, en médecine vétérinaire ». *Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire Sidi Thabet*.38p.
- **Berthuin, Jérémy, et Mathieu Miras. 2018.** « La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique et économique ». *Bpi france*. 27p.
- **Boussena Sabrina. 2020.**« Manuel des Travaux Pratiques de Bactériologie ». *Université des Frères Mentouri Constantine 1 Institut des Sciences Vétérinaires Département de Productions Animales*.61p.
- **Bhatia Rajesh, et Rattan Lal Ichhpujani. 2008.** «Essentials of Medical Microbiology». *Jaypee Brothers Medical Publishers Pvt. Limited*. 517p.

C

- **Carle, Sylvie. 2010.** « La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! » *Le parrainage des antimicrobiens* 42:16.

D

- **Dec, Marta, Dagmara Stepień-Pysniak, Klaudiusz Szczepaniak, Barbara Turchi, et Renata Urban-Chmiel. 2022.** « Virulence Profiles and Antibiotic Susceptibility of *Escherichia coli* Strains from Pet Reptiles ». *Pathogens*. **11(2):127.**
- **Díaz, María Alejandra, Richard Kent Cooper, Axel Cloeckert, et Ronald John Siebeling. 2006.** « Plasmid-Mediated High-Level Gentamicin Resistance among

Enteric Bacteria Isolated from Pet Turtles in Louisiana ». *Applied and Environmental Microbiology*. **72** (1):306-12.

**E**

- **El Mouden, Slimani, Ben Kaddour, Lagarde, Ouhammou, et Bonnet. 2006.** « *Testudo graeca graeca* Feeding Ecology in an Arid and Overgrazed Zone in Morocco ». *Journal of Arid Environments*. **64**(3):422-35.

**F**

- **Françoise Van Bambeke, Paul Tulkens, Dr. Méd., et Dr Sc. Pharm. 2008.** « *Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain* ». 212p.

**G**

- **Gambino, Delia, Domenico Vicari, Maria Vitale, Giorgia Schirò, Francesco Mira, Maria La Giglia, Alessandra Riccardi, Antonino Gentile, Susanna Giardina, Anna Carrozzo, Valentina Cumbo, Antonio Lastra, et Valeria Gargano. 2021.** « Study on Bacteria Isolates and Antimicrobial Resistance in Wildlife in Sicily, Southern Italy ». *Microorganisms*. **9** (1):203.
- **Grimont, P. A. D. 1987.** « Taxonomie des *Escherichia* ». *Médecine et Maladies Infectieuses* **17**:6-10.
- **Guillot, J. F. 1989.** « Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques ». *Annales de Recherches Vétérinaires* (20):3-16p.

**K**

- **KAMMERER Pauline. 2021.** « Méthodes d'analyse hématologique chez les reptiles : approche appliquée à la tortue grecque (*Testudo graeca*) et évaluation d'un modèle de comptage établi au sysmex XT2000I ». *Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1 (Médecine – Pharmacie), université Lyon*. 196p.
- **Karen Bush. 2010.** « The Coming of Age of Antibiotics: Discovery and Therapeutic Value ». *Annals of the New York Academy of Sciences*. **1213**(1):1-4.

**M**

- **Maria et MacWilliams. 2009.** « Indole Test Protocol ». *American Society for Microbiology*. 9p.

- **MAURIN Max. 2024.** « Antibiotiques, antibiorésistance et environnement ». *L'Encyclopédie de l'environnement est publiée par l'Université Grenoble Alpes* 9p.
- **Merad, et Merad. 2001.** « Toxicité des antibiotiques ». *Médecine du Maghreb.* **91** (17-21): 5p.
- **Meriç Lütfi; TunaligiL, Avsever. 2016.** « First Isolation of Enteropathogenic *Escherichia coli* from Land Turtles (*Testudo Graeca Ibera*) Cultured in Turkey ». *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.* **63** (4): 407-10.
- **Mounir Kechar. 2013.** « La tortue terrestre d'Algérie, un animal inconnu! » *Alger la Blanche.* Consulté (<https://www.algerlablanche.com/thematiques/index.php?1139la-tortue-terrestre-dalgerie-un-animal-inconnu>).
- **Muylaert, et Mainil. 2012.** « Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur « contagiosité » ». *Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège* 109-23.15p.

## P

- **Piñera-Pasquino, Lana. 2006.** « Environmental studies ». *Università di Padova.* 39p.
- **Poirel, Laurent, Jean-Yves Madec, Agnese Lupo, Anne-Kathrin Schink, Nicolas Kieffer, Patrice Nordmann, et Stefan Schwarz. 2018.** « Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* » édité par F. M. Aarestrup, S. Schwarz, J. Shen, et L. Cavaco. *Microbiology Spectrum.* **6**(4): 6.4.14.27p.

## R

- **Rasmussen, Cari, Matthew C. Allender, Christopher A. Phillips, John Byrd, Terrell Lloyd, et Carol Maddox. 2017.** « Multi-drug resistance patterns of enteric bacteria in two populations of free-ranging eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) ». *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.* **48**(3):708-15.

## S

- **Sabrina Hossain, et Gang-Joon Heo. 2021.** « Pet-turtles: a potential source of human pathogenic bacteria ». *Archives of Microbiology.* **203**: 3785-92.



- **N. P Satapathy, R. Mishra, S. K. Dixit, A. Padhy, A. R. Sahu, S. P. Sahoo, et S.C. Jena. 2016.** « Microbiological Analysis and Antibiotic Sensitivity of Water for Wild Animals in Nandankanan Zoo, Odisha ». *Journal of Animal Research*. **6**(1):105.

**T**

- **Tiar, Boudebza, Souallem, et Tiar-Saadi. 2019.** « Enquête sur l'ampleur du ramassage illégal des tortues terrestres sauvages : pratique non suffisamment contrôlée en Algérie (cas de la Wilaya d'El Tarf, nord-est algérien) ». *Revue Algérienne des Sciences –A*. **2**:71-75p.
- **Torche et Bensegueni.2020.** « Pharmacologie spéciale Chapitre1: Les antibiotiques ». *Université des Frères Mentouri Constantine1*. 31p.

**V**

- **Vachel, et Février. 1952.** « Les antibiotiques dans l'alimentation animale ». *Annales de Zootechnie*. **1**(4):53-91.

**W**

- **Wheeler, Emily, Pei-Ying Hong, Lenin Cruz Bedon, et Roderick I. Mackie. 2012.** « Carriage of antibiotic-resistant enteric bacteria varies among sites in galápagos reptiles ». *Journal of Wildlife Diseases*. **48**(1):56-67.

**Y**

- **D. Yala, A. S. Merad, D. Mohamedi, et M. N. Ouar Korich. 2001.** « Classification et mode d'action des antibiotiques ». *Médecine du Maghreb* (91):8p.

**Annexes**

**Annexe N° 01 :****Matériel utilisé :**

Matériel d'échantillonnage	Les flacons stériles- les écouvillons stériles- les gans- marqueur.
Matériel de stérilisation	Autoclave- bec bunsen.
Matériel de préparation	Agitateurs- balance- éprouvette graduée- erlenmeyer-aluminium spatule- l'eau distille
Matériel d'incubation	Etuve de température 37 C ° et à 44 C °
Matériel divers	Béchers- boîtes de Pétri-pipettes Pasteur- réfrigérateur- flacons- microscopie optique- lames- tube à vis – bain marie – pince- pipette plastiques- entonnoir-portoirs – plaque chauffante.

**Les milieux d'cultures :**

Milieu d'culture	Macconkey – Triple SugarIron -citrate de Simmons- gélose nutritive, Muller –Hinton.
Les bouillons	Bouillon nutritive- l'eau physiologiques- bouillon Nitrate-, eau peptoneexempt indole.
Réactive	Nitrate réductase 1 et 2- kovaces.
Les produits	Violet de Gentiane- Lugol-l'alcool, Fuschine-disques oxydase- Les disques d'antibiotiques-disques ONPG- l'eau oxygéné.

**Annexe N° 02 :**

La composition des différents milieux d’culture utilisé pour 1L d’eau distille :

**Gélose Macconkey :**

<b>Gélose Macconkey</b>	
<b>Peptone</b>	20 g
<b>Lactose</b>	10g.
<b>Sels biliaire</b>	0.072g
<b>Chlorure de sodium.</b>	05g
<b>Agar</b>	12g.
<b>pH = 7,4.</b>	

**Gélose nutritive :**

<b>Gélose nutritive</b>	
<b>Extrait de viande</b>	1,0 g
<b>Extrait de levure</b>	2,0 g
<b>Peptone</b>	5,0 g
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0 g
<b>Agar</b>	15,0 g
<b>PH = 7,4</b>	

**L’eau physiologique :**

<b>L’eau physiologique</b>	
<b>Chlorure de sodium</b>	9,0 g
<b>L’eau distille</b>	1l

**Milieu TSI :**

<b>Milieu TSI</b>	
<b>Peptones de caséine</b>	15g
<b>Peptones de viande</b>	5,0 g
<b>Extrait de viande</b>	3,0 g
<b>Extrait de levure</b>	3,0 g
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0 g
<b>Lactose</b>	10 g
<b>Saccharose</b>	10 g
<b>Glucose</b>	1,0 g
<b>Citrate de fer III et d'ammonium</b>	0,5 g
<b>Thiosulfate de sodium</b>	0,5 g
<b>Rouge de phénol</b>	0,024 g
<b>Agar</b>	12g
<b>PH = 7,4</b>	

**Milieu Citrate de Simmons:**

<b>Milieu Citrate de Simmons:</b>	
<b>Bleu de bromothymol</b>	2,0 g
<b>Chlorure de Sodium</b>	0,08 g
<b>Sulfate de magnésium</b>	5,0 g
<b>Hydrogénophosphate de potassium</b>	0,2 g
<b>Dihydrogénophosphate d'ammonium</b>	1,0 g
<b>Agar</b>	15 g
<b>PH= 6,9</b>	

**Gélose Muller-Hinton :**

<b>Gélose Muller-Hinton</b>	
<b>Infusion de viande de boeuf déshydraté</b>	3,0 g
<b>Hydrolysate de caséine</b>	17,5 g
<b>Amidon 1,5g Agar</b>	10 g
<b>PH= 7,3</b>	

**Bouillon Nutritive:**

<b>Bouillon Nutritive</b>	
<b>Infusion de cervelle de veau</b>	12,5 g
<b>Infusion de cœur de bœuf</b>	5,0 g
<b>Proteose-peptone</b>	10 g
<b>Glucose</b>	2,0 g
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0 g
<b>Phosphate de disodique</b>	2,5 g
<b>PH = 7,4</b>	

**Bouillon Nitrate:**

<b>Bouillon Nitrate</b>	
<b>Peptone de viande.</b>	10 g
<b>Extrait de viande</b>	5,0 g
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0 g
<b>Nitrate de potassium</b>	1,0 g
<b>PH = 7</b>	

**Réactif de Griess I (NRI):**

<b>Réactif de Griess I (NRI)</b>	
<b>Acide parasulfanilique</b>	8,0 g
<b>Acide acétique 5N</b>	11 g

**Réactif de Griess II (NRII):**

<b>Réactif de Griess II (NRII)</b>	
<b><math>\alpha</math>-naphtylamine</b>	6,0 g
<b>Acide acétique 5N</b>	11 g

**Réactif de Kovacs :**

<b>Réactif de Kovacs</b>	
<b>Alcool amylique</b>	5,0 g
<b>Paradiméthylamino-benzaldéhyde</b>	75 ml
<b>HCl pur</b>	25m

**Annexe N° 03 :**

Présentation des antibiotiques utilisés.

Les antibiotiques	Abréviation	La charge de disque (µg)	La famille
Amoxicillin- acide clavulanique	AUG	30	Bêta-lactamine
Aztreonam	ATM	30	Bêta-lactamine
Céfépime	FEP	30	Bêta-lactamine
Céftazidime	CAZ	10	Bêta-lactamine
Amikacine	AN	30	Aminoside
Ticarcilline	TIC	75	Bêta-lactamine
Acide Nalidixique	NA	30	Quinolone
Kanamycine	K	30	Aminoside
Tobramycine	TOB	10	Aminoside

**Annexe N° 04 :**

Profil des résultats d'identification biochimique des souches isolées.

Test Souches	Indole	Nitrate	Glucose	Lactose	Gaz	H <sub>2</sub> S	Citrate	Catalase	Oxydase	ONPG
TDEM1	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDEM2	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDEM3	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDEM4	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
TDEM5	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDEM6	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDM1	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDM2	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
TDM5	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDM6	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDM7	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDM11	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDM12	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDM13	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDM14	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDM15	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA1	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDA2	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDA3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
TDA4	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA6	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA7	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA9	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA10	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA11	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA12	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
TDA14	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
TDA15	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA16	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDA17	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+



TDA18	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDA19	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
TDA20	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TD1	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
TD2	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDT2	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDT3	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDT4	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDB1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
TDB2	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
TDB3	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDB5	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDB6	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDB8	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDB 9	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TDB11	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+

**La colore noire** : Souches identifiées comme *E. coli*.

**La colore rouge** : Souches identifiées comme non *E. coli*.

**Annexe N° 05:**

Concentrations et diamètres critiques et règles de lecture Interprétative en médecine vétérinaire pour *Enterobacteriaceae*(CASFM2023) :

Les antibiotiques	Abréviaton	Charge de disque (µg)	Concentrations critiques(mg/L)		Diamètres critiques(mm)		
			S ≤	R>	R <	I	S ≥
Amoxicilline+ Acide clavulanique	AUG	10-20	8	8	19	-	19
Aztréonam	ATM	30	1	4	21	21 – 26	26
Céfépime	FEP	30	1	4	24	24 -27	27
Ceftazidime	CAZ	30	1	4	19	19 - 22	22
Ticraciline	TIC	75	8	8	16	-	16
Tobramycine	TOB	10	2	2	16	-	16
Amikacine	AN	30	8	8	18	-	18
Kanamycine	K	30	8	8	18	-	18
Acide nalidixique	NA	30	8	8	18	-	18

**Interprétation:**

R: Résistant- S: sensible- I: intermédiaire.

**Annexe N°06 :**

Le profil de La résistance des souches *Escherichia coli* isolées aux antibiotiques :

	ATM	AUG	FEP	CAZ	AN	TIC	NA	K	TOB
TDEM1	27	14	24	6	20	9	22	20	17
TDEM2	31	8	26	7	19	10	9	21	16
TDEM3	30	15	26	12	18	8	23	19	16
TDEM5	24	16	21	R	17	7	21	18	16
TDM1	25	24	24	R	14	24	25	18	16
TDM7	31	22	30	R	20	25	24	I	R
TDM12	26	13	24	R	19	21	23	15	16
TDM13	30	9	21	R	19	22	18	15	17
TDM14	36	25	29	12	21	24	23	21	19
TDM15	30	13	26	R	18	24	24	19	16
TDA4	26	15	22	R	20	R	23	20	18
TDA6	35	17	26	R	19	23	24	21	17
TDA7	27	16	25	R	20	27	24	21	18
TDA9	25	15	24	R	19	R	22	19	17
TDA10	32	14	21	R	13	R	25	21	11
TDA11	27	15	27	R	22	R	24	19	17
TDA15	25	16	25	R	26	26	24	19	12
TDA16	27	12	29	R	23	23	23	20	12
TDA20	25	12	25	R	19	20	9	21	16
TDT2	28	17	36	R	R	25	7	20	16
TDT3	43	18	32	R	20	R	27	19	12
TDT4	28	18	29	10	22	21	27	21	18
TDB3	31	15	27	R	20	23	24	19	17
TDB5	26	14	24	R	R	R	22	20	18
TDB6	24	16	21	9	20	24	22	19	18
TDB8	35	16	29	R	R	R	24	20	11
TDB9	36	17	32	R	15	29	29	23	21
TDB11	32	17	28	R	19	R	28	20	16

## Résumé :

Cette étude a été menée pour déterminer le niveau de résistance aux antibiotiques des échantillons d'*Escherichia coli* isolées chez les tortues. Nous avons mené une étude à partir d'échantillons fécaux de 54 tortues terrestres dans 6 régions dans la wilaya de Djelfa (Ain Oussera, El Mouilah, Moudjbara, Djelfa, Tlilat, Boudibe) 28 souches d'*Escherichia coli* ont été identifiées et examinées leur résistance à l'aide d'antibiogrammes en utilisant 9 antibiotiques. Les résultats à la Céfotazidime ont été 100%, un taux de résistance élevé de Amoxicilline-acide clavulanique (96.43%) et Kanamycine (96.43%) et Ticarcilline (60.71%). Par contre résistance faible à Amikacine (25%), Tobramycine (21.42%), Céfépime (14.29%), Acide Nalidixique (10.71%) et absence de résistance pour Aztreonam.

**Mot-clé:** *Escherichia coli*, tortues, Résistance aux antibiotiques, antibiotique.

## Abstract:

This study was conducted in order to determine the level of antibiotic resistance on samples of *Escherichia coli* isolated from tortoises. We conducted a study from fecal samples of 54 tortoises in 6 regions in the wilaya of Djelfa (Ain Oussera, El Mouilah, Moudjbara, Djelfa, Tlilat, Boudibe) 28 strains of *Escherichia coli* have been identified and tested for antibiotic resistance using 9 antibiotics. The results to the Céfotazidime, were 100% a high resistance rate of Amoxicillin-acide clavulanique (96.43%), Kanamycine (96.43%) and Ticarcilline (60.71%). By cons low resistance of Amikacine (25%), Tobramycine (21.42%), Céfépime (14.29%), Acide Nalidixique (10.71%) and no resistance for Aztreonam.

**Keyword:** *Escherichia coli*, turtles, antibiotic resistance, antibiotic.

الملخص :

أجريت هذه الدراسة لتحديد مستوى مقاومة المضادات الحيوية على عينات من الإشريكية القولونية المعزولة عند السلاحف. أجرينا دراسة من عينات براز لـ 54 سلحفاة في 6 مناطق في ولاية الجلفة (عين وسارة، المويلح، مجبارة، الجلفة، تليلات، بوديبي) تم تحديد 28 سلالة من الإشريكية القولونية واختبارها لمقاومة المضادات الحيوية باستخدام 9 مضادات الحيوية.

كانت النتائج كالتالي:

معدل مقاومة مرتفع لكل من (100%) Céfotazidime ، (60.71%) Ticarcilline ، (96.43%) Kanamycine ، (96.43%) Amoxicillin-acide clavulanique . مقاومة منخفضة لكل من (10.71%) Acide Nalidixique ، (14.29%) Céfépime ، (21.42%) Tobramycine ، (25%) Amikacine وغياب المقاومة ضد Aztreonam.

الكلمة الرئيسية: الإشريكية القولونية، السلاحف، مقاومة المضادات الحيوية، المضادات الحيوية