



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة زيان عاشور-الجلفة  
Université Ziane Achour-Djelfa  
كلية العلوم الطبيعية والحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Biologiques  
projet de fin d'étude  
En Vue de l'obtention du Diplôme de Master  
Filière: Sciences Biologiques.  
Spécialité: Microbiologie Appliquée.  
Thème

Étude de la résistance aux antibiotiques des souches  
d'*Escherichia coli* isolées chez les hérissons dans la région de Djelfa.

Présenté par: BENKHECHIBA Safa  
BENSAAD Nadjet Karima

Devant le jury composé de :

Président: Mr KHALED KHODJA Y.  
Promoteur: Mr BELMAHDI M.  
Examineur: Mr MOSTEFAOUI A.

M.C.A  
M.C.A  
M.C.B

Univ. Djelfa  
Univ. Djelfa  
Univ. Djelfa

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous remercions Dieu, le Généreux qui a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas et aussi de nous avoir donné la force de terminer notre travail.*

*Notre profonde gratitude est exprimée à notre promoteur '' BELMAHDI Mohamed '' qui nous fait l'honneur de diriger notre travail et nous a guidé tout au long de sa réalisation.*

*Nous voudrions remercier également les membres du jury '' Mr. Khaled Khodja Y. '', '' Mr Mostefaoui A. '', d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude aux responsables de laboratoire de faculté SNV de Djelfa '' Mr Gassab '' et l'équipe du laboratoire et en particulier '' Mr Aissa ''.*

*ent à toutes les personnes qui ont contribué de près Enfin, nos remerciements s'adressent ou de loin à la réalisation de ce travail \*Merci\**

# *Dédicace*

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers le Tout-Puissant pour m'avoir permis de réaliser ce modeste travail.*

*Je remercie sincèrement mes chers parents, qui ont toujours été là pour m'encourager et me soutenir, surtout dans les moments les plus difficiles. À ma mère bien-aimée et à mon père, qui sont la source de mon existence et de mon succès, ainsi qu'à mes frères Zakaria et Ilyes, et à mes sœurs chères, je vous suis infiniment reconnaissant pour vos encouragements, vos conseils et votre amour constant, ainsi qu'à toute la famille BENKHECHIBA.*

*Un remerciement tout particulier à mon binôme Nadjat, pour son aide précieuse et sa grande patience. Je vous adresse ici mes plus sincères salutations.*

*Je souhaite également exprimer ma gratitude à l'ensemble des professeurs, et plus particulièrement à mon professeur BELMAHDI Mohamed, pour son soutien tout au long de ce travail, ainsi qu'à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, ainsi qu'à tous ses membres, enseignants et étudiants.*

***Cordialement : BENKHECHIBA SAFA***

# *Dédicaces*

## *Merci à Dieu*

« En premier lieu, je voudrais remercier **Allah**, notre créateur qui m'a donné la force à accomplir ce travail. »

*Aujourd'hui, je consacre mon succès à...*

### *Mon cher père*

*A qui m'a soutenu sans limites et m'a appris que le monde est une lutte et que son arme est la connaissance et la connaissance, A celui qui a inculqué dans mon âme les bonnes mœurs, À l'homme le plus cher de l'univers, Merci **papa** Dieu prolonge ta vie.*

### *Chère maman*

*Elle dont le cœur m'a embrassé devant sa main, à mon ange dans la vie, qui m'a soutenu dans ses prières et ses supplications, À celle qui veillait toutes les nuits, illuminant mon chemin, au sens de l'amour et de la tendresse, à la femme la plus merveilleuse qui existe, ma chère mère. Merci **maman** Dieu prolonge ta vie.*

### *Chère sœur*

*Elle ma source de force et d'encouragement, Tu es resté à mes côtés chaque fois que j'étais sur le point de tomber. Merci, ma chère sœur **Fatima**.*

### *Mes frères*

*À mes frères, mon soutien et ma force **Mouhamed, Djamel, Abdelkader, Moukhtar**, Que Dieu les garde comme un côté constant pour moi .*

*A mes chers amis avec qui j'ai créé les meilleurs souvenirs **Noura, Amal, Lamia** .*

*Et A mon binôme **Safa** pour son aide et sa patience, je lui souhaite du succès.*

*Je remercie également mon professeur **Belmahdi Mohamed** pour son soutien et ses conseils continus. Avec mon profond respect pour lui. Je remercie tous les professeurs, travailleurs, amis et collègues de la faculté des Sciences Biologiques Djelfa.*

*À mes neveux et nièces, à toute la famille **Bensaad** , à tous ceux qui m'aiment et à tous ceux qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours académique. Enfin, j'exprime ma gratitude à moi-même **Ikram** pour la patience, la détermination et la persévérance.*

***Bensaad Nadjjet***

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### I : Généralités sur le hérisson

I-1- Description générale de l'hérisson.....3

I-2- Infections bactériennes chez les hérissons.....7

I-3-Flore intestinale.....7

### II : Les antibiotiques et l'antibiorésistance

II-1- Utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire.....8

II-2- Résistance aux antibiotiques.....8

II-3- Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....9

II-4- Inhibition d'antibiotique.....9

II-5- Mode d'action des antibiotiques.....9

## MATERIEL ET METHODES

I - L'objectif global.....12

I-1- Prélèvements.....12

I-2- Les caractéristiques des hérissons étudiés.....12

II- Isolement et identification des souches.....14

II-1- Enrichissement.....14

II-2- Isolement.....14

II-3- Purification.....	14
II-4- Etude macroscopique.....	15
II-5- Etude microscopiques.....	15
II-6- Etude biochimique.....	15
<b>III- Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....</b>	<b>18</b>
III-1- Antibiogramme.....	18

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

I-1 Souches bactériennes.....	22
I-2 Résultats des tests biochimiques.....	22
I-3- Sensibilité des souches aux antibiotiques.....	22
II- Détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines.....	23
II-1 Recherche de la production de BLSE.....	24
<b>Discussion.....</b>	<b>27</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>30</b>

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## **Résumé**

## Liste des abréviations

**AK** : Amikacine.

**AMC** : Amoxicilline-clavulanate.

**ATB** : Antibiotique.

**ATM** : Aztréoname

**BLSE** : Bêta-Lactamases à Spectre Etendu.

**BMR** : Bactérie Multi Résistante.

**BN** : Bouillon Nutritif.

**CAZ** : Ceftazidime.

**CA-SFM-vet** : Comité de l'Antibiogramme vétérinaire de la Société Française de Microbiologie.

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CN** : Gentamicine.

**DD-test** : Double Disc synergie test.

**FEP** : Céfépime.

**HB** : Hérisson Boudibe.

**HM** : Hérisson Moudjbara

**HT** : Hérisson Tlilat.

**IMP** : Imipenème.

**I** : Intermédiaire.

**K** : Kanamicyne

**MAC** : Mac Conkey.

**MH** : Mueller Hinton.

**NA** : Acide Nalidixique.

**NT** : non testé.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**ONPG** : Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside.

**R** : Résistant.

**S** : Sensible.

**TIC** : Ticarcilline.

**TOB** : Tobramycine.

**TSI** : Triple Sugar Iron

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Différences observées entre plusieurs les hérissons.....	4
<b>Figure 2</b> : Piquants d'hérissons, photographie présentant la densité de piquants d'hérisson ainsi que leur cou leur.....	5
<b>Figure 3</b> : Squelette de hérisson montrant un cou très court avec sept vertèbres cervicales très courtes, 16 thoraciques, sept lombaires 6 sacrée et enfin 11 coccygiennes.....	5
<b>Figure 4</b> : Echantillon de matière fécale du hérisson.....	12
<b>Figure 5</b> : Résultat d'isolement des souches sur gélose Mac Conckey.....	14
<b>Figure 6</b> : Ensemencement de la suspension mère sur la gélose MH.....	19
<b>Figure 7</b> : Dépôt les disques d'antibiotiques sur la gélose MH.....	19
<b>Figure 8</b> : Mesure des diamètres des zones d'inhibition avec pied de coulisse.....	20
<b>Figure 9</b> : Les résultats du DD-test pour les deux souches MH2 et MH3 d' <i>Escherichia coli</i> .....	25

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°1</b> : Classification des hérisson.....	4
<b>Tableau N°2</b> : Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Boudibe à Djelfa.....	12
<b>Tableau N°3</b> : Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Moudjbara à Djelfa.....	13
<b>Tableau N°4</b> : Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Tlilat à Djelfa.....	13
<b>Tableau N°5</b> : Présentation de caractères cultural et biochimiques d' <i>E. coli</i> .....	22
<b>Tableau N°6</b> : Représente les résultats des tests d'antibiogramme sur gélose MH ....	23
<b>Tableau N°7</b> : Présentation de phénotype de la résistance des souches <i>E. coli</i> .....	23
<b>Tableau N°8</b> : Résultats globaux de la résistance de tous les isolats.....	24

# **Introduction**

## **Introduction**

L'antibiothérapie, au cours des années, a transformé radicalement le domaine médical et réduit de manière significative la mortalité liée aux maladies infectieuses. La sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques est cruciale pour assurer le succès du traitement, tandis que la résistance augmente le risque d'échec thérapeutique (**Carle, 2009**). Le succès du traitement repose sur une combinaison efficace de l'activité antibiotique contre les bactéries responsables de l'infection et des concentrations adéquates dans les tissus infectés (**Muylaert et Mainil, 2012**). Cependant, l'utilisation d'antimicrobiens dans l'industrie agroalimentaire aggrave le problème de la résistance, car elle entraîne la libération de populations bactériennes contenant des souches résistantes dans l'environnement. Le transfert de ces agents pathogènes résistants des animaux aux humains peut se produire par contact direct, par l'eau ou les aliments contaminés, favorisant ainsi la transmission des gènes de résistance aux bactéries humaines (**carle, 2009**). Contrairement à l'usage humain des antibiotiques, qui vise principalement le traitement des maladies, leur utilisation chez les animaux vise également la prévention des maladies et la promotion de la croissance (**Cavallo et Mérens, 2007**).

Le hérisson d'Algérie, un mammifère insectivore peu étudié, fait l'objet de premières recherches en Algérie sur son régime alimentaire. L'importation directe de hérissons d'Afrique est interdite en raison de leur potentiel de transmission de maladies graves, telles que la fièvre aphteuse (**Chafika, 2009**). Les hérissons peuvent être porteurs de plusieurs zoonoses, y compris la salmonellose. Bien que les infections à *Salmonella* chez les hérissons puissent causer des maladies cliniques, beaucoup restent porteurs asymptomatiques, avec une prévalence de *Salmonella* variant de 0 à 96 % chez les populations sauvages (**Fagan-Garcia, 2022**).

La bactérie *Escherichia coli* constitue une préoccupation majeure pour la santé humaine et animale. La surveillance régulière de la résistance aux antibiotiques chez *E. coli* clinique en médecine humaine est essentielle. La résistance aux antibiotiques chez les bactéries adaptées à la colonisation des humains et des animaux pose également un problème crucial, car les environnements partagés facilitent la propagation rapide des souches résistantes entre hôtes. Les contacts fréquents entre animaux de compagnie et humains augmentent le risque de transmission de bactéries résistantes, plusieurs études ayant démontré la transférabilité aisée de ces souches (**Saputra et al., 2017**).

De nombreuses recherches appuient l'idée d'une corrélation entre l'usage d'antibiotiques en agriculture et en élevage et l'émergence de souches résistantes dans les aliments comme vecteur de transmission (**Madec, 2013**).

Dans cette optique, cette étude se concentre sur la caractérisation de la résistance à divers antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des excréments de hérisson. Pour ce faire, nous avons mis en œuvre l'approche expérimentale suivante: Isolement et identification des souches pures de bactéries *Escherichia coli* à partir des déjections de hérisson, puis étudier leur sensibilité.

## **Généralités sur le hérisson**

En Algérie, les études les plus courantes portent sur la faune mammifère, notamment les singes asticots, les mangoustes, les chacals ou les sangliers. Il en va de même pour le hérisson d'Algérie (*Atelerix algirus*) (**Mouhoub, 2009**). Le hérisson d'Algérie est une espèce de mammifères de la famille des Erinaceidae, de l'ordre des Insectivore et du genre *Atelerix*. C'est un hérisson plutôt imposant. Il mesure entre 1200 et 1400 g à l'âge adulte. Ses parties dorsales et latérales sont couvertes de piquants. Protection contre les prédateurs. Le visage est très différent du reste du corps, avec un museau pointu, des oreilles bien visibles, courtes et arrondies, mais des yeux assez petits. *Atelerix algirus* se rencontre dans des zones où il y a peu de végétation. Il est en activité la nuit (**Meribai, 2023**). Le but de cette partie consiste à exposer les principales caractéristiques du hérisson d'Algérie (*Atelerix algirus*) (**Dalila, 2019**).

### **I-1- Description générale de hérisson**

#### **I-1-1 Dimensions et morphologie**

Le hérisson algérien est un petit mammifère dont l'adulte, mesure 20 à 25 cm de long et a une masse corporelle de 300 à 1300 g, selon le sexe et la saison. Les caractères morphologiques les plus remarquables sont le pelage dorsal constitué de piquants orientés en tous sens et une musculature peaussière qui permet à l'animal de se mettre en boule dès qu'il est inquiet (stratégie anti-prédateur). Les piquants sont un peu plus en avant sur le front et séparés par une petite échancrure médiane sans piquants. Certains sujets de la même population présentent des différences de couleur: le dessous du corps est brun-clair, les flancs, la tête et le museau brun-foncé. Cependant, certains autres (**Mouhoub, 2009**).

Tableau N°1 : Classification des hérissons (Mennessier, 2013).

Règne	Animalia
Embranchement	Chordata
Sous-embranchement	Vertebrata
Classe	Mammalia
Sous-classe	Theria
Ordre	Eutheria
Infra-classe	Erinaceomorpha ou Insectivore
Ordre	Erinaceomorpha ou Insectivore
Famille	Erinaceidae
Sous-famille	Erinaceidae
Genre	<i>Erinaceus</i>



Figure 1: Différences observées entre plusieurs les hérissons (Originale, 2024).

### I-1-2 Epines

Le manteau épineux représente la particularité morphologique fondamentale de ce petit animal. Les piquants de 2 à 3 cm de long et d'environ 2 mm de diamètre sont d'un blanc crémeux à la base et au sommet. Ils sont striés du brun clair au noir dans toute leur longueur (Françoise, 2018). Les piquants sont de petits poils creux qui vivent 18 mois et se renouvellent constamment. Trois d'entre eux sortent de la peau. Chacun des piquants est attaché à un muscle strié qui lui permet de se développer. La couverture solide d'environ 7000 piquants s'étend du front aux flancs (Mennessier, 2013).

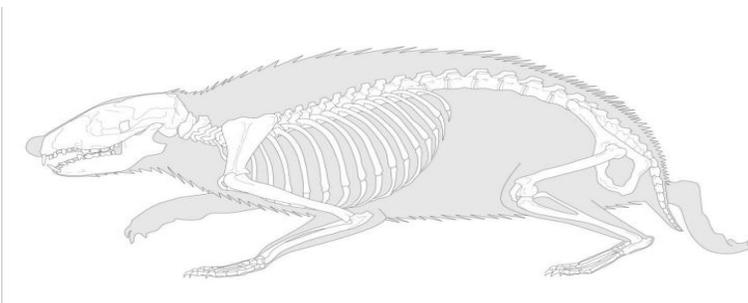


**Figure 2:** Piquants de Hérissons, photographie présentant la densité de piquants de hérisson ainsi que leur couleur (Mennessier, 2013).

### **I-1-3 Squelette :**

Elle se distingue par le nombre de vertèbres cervicales et leur longueur qui sont similaires aux vertèbres humaines. Effectivement, sa longueur du cou lui permet de se mettre en boule. Il a un crâne carré, un rachis vouté et une étroite ceinture pelvienne. Selon les spécimens des collections du laboratoire d'anatomie comparée du Museum, la formule vertébrale retenue est la suivante: cervicales = 7; dorsales = 14 à 16 (moyenne 15,0); lombaires = 5 à 6 (moyenne 5,8); sacrées = 3 à 4 (moyenne 3,3); caudales = 11 à 28 (Mennessier, 2013).

Le squelette de hérisson est illustré dans la figure 3.



**Figure 3:** Squelette de hérisson montrant un cou très court (avec sept vertèbres cervicales très courtes, 16 thoraciques, sept lombaires 6 sacrée et enfin 11 coccygiennes) (Mennessier, 2013).

### **I-1-4 Alimentation**

La nourriture du Hérisson d'Algérie est composée de vers de terre, de mollusques, d'araignées, de cloportes, d'insectes, d'œufs d'oiseaux qui nichent au sol, de baies et de fruits sucrés (**Meribai, 2023**). Elle se nourrit principalement d'insectes tout au long de l'année (**Mouhoub, 2009**).

### **I-1-5 Reproduction**

Le cycle biologique annuel du Hérisson est influencé par le cycle physiologique de reproduction, les ressources alimentaires disponibles et les conditions météorologiques. La période principale de reproduction s'étend en général de fin avril à fin août, mais Il peut durer de mars à septembre (**Ouhocine, 2017**). La gestation a une durée de 35 à 40 jours. La femelle, une fois de plus seule, met bas dans un terrier ou un creux bien couvert. Elle produit une portée d'environ 1 à 4 petits par an (**Kaddouri, 2021**). Les nouveaux-nés sont rose pâle, aveugles et sourds, avec des piquants blancs et mous qui deviennent durs très rapidement (**Mouhoub, 2009**).

### **I-1-6 Répartition et habitat**

Cette espèce d'hérisson se rencontre dans toute la zone comprise entre le plateau saharien et les chaînes montagneuses de l'Atlas jusqu'au littoral mer Méditerranée (**Dalila, 2019**). Ils vivent dans les zones boisées et les terres cultivées et sont répandus en Europe, en Asie et en Afrique. En Asie, ce mammifère est actif à la fois au crépuscule et à la nuit. Par conséquent, il passe son sommeil pendant la journée dans des nids d'herbes sèches et de feuilles mortes souvent présents dans les buissons, mais il peut également se dissimuler dans différents abris tels que des pierres, un tas d'herbe, un fagot de bois ou d'arbres (**Karim, 2006; Mouhoub, 2009**).

### **I-1-7 Fèces**

Elles ont une forme cylindrique avec un bout postérieur effilé et un bout antérieure généralement plus arrondie. Leurs dimensions sont très différentes; elles varient bien sûr en fonction de l'âge et du sexe de l'animal. La couleur de la défécation varie en fonction de la nourriture de l'animal. Il y en a qui sont noirâtres. En n'émettant aucune odeur et en ayant une apparence brillante grâce à la présence de fragments solides de différents insectes et arthropodes, ainsi que de grises cendrées, elle indique la présence de ces insectes (**Ouhocine, 2017**).

### **I-2-Infections bactériennes chez les hérissons**

Les hérissons peuvent jouer un rôle important en tant que réservoir d'infection chez les animaux domestiques provenant des animaux sauvages ou chez les humains dans les zones urbaines et rurales (**Kemal et al., 2023**). La maladie de Carré est répandue à travers le globe. Plusieurs carnivores sont vulnérables à la maladie. Des cas d'infections ont également été signalés chez des rongeurs, des ongulés ou encore des primates. Les Morbillivirus sont également présents chez les hérissons et entraînent des symptômes similaires à ceux de la maladie de Carré ainsi que des dommages aux organes internes (**Madoui et al., 2013**). Plusieurs maladies épidémiques et pandémiques sont causées par des bactéries pathogènes. Par conséquent, la recherche de produits anti-infectieux est devenue un enjeu majeur pour la santé publique (**Jean-Luc, 2013**).

### **I-3-flore intestinale :**

La flore intestinale des animaux est composée de bactéries commensales, comme *E. coli* et *Enterococcus faecium* (**Pascal, 2005**). La flore intestinale de l'homme et des animaux est perçue comme un milieu favorable pour la sélection et l'amplification des bactéries résistantes et des gènes de résistance. La flore cutanée, la flore oro-pharyngée et la flore vaginale sont également soumises à des traitements antibiotiques. Cependant, ces flores bactériennes sont moins compactes que la flore intestinale (**Stéphanie, 2009**).

#### **I-3-1-La flore intestinale : un compartiment de sélection**

La flore intestinale est un écosystème complexe chez l'homme et chez l'animal, composé d'environ  $10^{14}$  micro-organismes cultivables, dont la composition varie selon la localisation dans le tube digestif, l'hôte qui l'héberge et son âge. La présence de bactéries dans le duodénum et l'intestin grêle proximal est limitée ( $10^3$ - $10^4$  bactéries/ml) (**Stéphanie, 2009**). Elles sont observées tout au long du tube digestif de la bouche à l'anus. La flore buccale est particulièrement variée et comprend à la fois des bactéries aérobies et anaérobies (**Medjad, 2020**).

#### **I-3-2- Les entérobactéries**

Les Enterobacteriaceae sont des bacilles à Gram négatif de la flore fécale commensale de l'homme et des animaux. Les espèces telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*, *Citrobacter* ne causent pas de maladies intestinales, mais elles ne sont pas causées par des maladies. Apparaissent fréquemment dans des infections extra-intestinales comme les infections urinaires. *Salmonella*, *Yersinia*, *Shigella* et certaines souches d'*Escherichia coli*

sont les espèces pathogènes les plus couramment identifiées dont l'ingestion entraîne une infection gastro-intestinale (**Stéphanie, 2009**). Le microbiome intestinal, préalablement nommé flore intestinale, Il s'agit de tous les microorganismes qui se trouvent dans le tube digestif. Celui-ci est principalement constitué de bactéries (**Quentin, 2023**). Les entérobactéries on peut facilement les propager par transmission manuportée ou par contamination de l'eau et des aliments (**Dortet et al., 2013**).

## **II- Les antibiotiques et l'antibiorésistance**

Ernest Duchesne, en 1887, remarquer le pouvoir antibactérien du genre *Penicillium*. En 1928, le Dr Alexander: Fleming découvre ce phénomène, révélant que des colonies proches des pénicillinidés étaient mortes. Fleming a publié un article sur les effets antibactériens de la pénicilline (**Naimi, 2022**).

Les antibiotiques sont des médicaments qui ont la capacité de tuer des bactéries ou de restreindre leur prolifération. Selon leurs propriétés pharmacologiques (**Nicolas, 2020**).

### **II-1- Utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire:**

Les antibiotiques constituent la principale catégorie de médicaments vétérinaires utilisés pour le traitement des maladies infectieuses causées par des bactéries. Chez les animaux d'élevage et chez les animaux domestiques. Les substances employées font des mêmes familles que ceux utilisés en médecine humaine (**Bentabet et Bourada, 2019**).

Il est recommandé d'utiliser le traitement non seulement pour les animaux malades, mais également pour les animaux sains et potentiellement infectés (**Naimi, 2022**).

### **II-2- Résistance aux antibiotiques :**

La résistance bactérienne a émergé suite à l'introduction des antibiotiques dans le traitement des maladies infectieuses, en se basant sur divers critères qui ne perturbent pas les interactions entre les bactéries. Les interactions entre elles (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) sont étroitement liées (**Muylaert et Mainil, 2012**).

Le traitement des infections bactériennes est difficile en raison de cette résistance, ce qui entraîne la propagation des souches multirésistantes (**Sanders et al., 2011**).

La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par le fait d'être naturel ou acquis, leur mécanisme et leur support génétique (**Muylaert et Mainil, 2012**).

### **II-3-Mécanismes de résistance aux antibiotiques :**

De nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques ont fait l'objet d'études approfondies, et plusieurs cibles de la fonction cellulaire ont été impliquées dans ces mécanismes. Les sites de résistance varient selon les espèces bactériennes (**Bouyahya et al., 2017**).

### **II-4- Inhibition d'antibiotique :**

Les enzymes sont produites par certaines bactéries qui modifient les antibiotiques en dégradant ou en modifiant le cordier. Différentes méthodes peuvent être utilisées pour modifier les antibiotiques en fonction de réactions chimiques, notamment les aminosides, le chloramphénicol, les streptogramines, les macrolides et les macrolides (**Bouyahya et al., 2017**).

### **II-5- Mode d'action des antibiotiques :**

Ce sont les stratégies les plus utilisées :

- 1) Attaque contre la production de la paroi cellulaire des bactéries.
- 2) Attaque contre les membranes bactériennes.
- 3) Interruption de la production de protéines.
- 4) Inhibition de la production d'acides nucléiques (ARN et ADN) en utilisant les éléments de synthèse.
- 5) Blocage d'une voie métabolique cruciale chez la bactérie (**Pierre-Yves, 2008**).

# **Partie expérimentale**

# **Matériel et méthodes**

**Matériel et méthodes :**

**I- L'objectif global :**

L'objectif principal de ce travail repose sur l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées des hérissons à Djelfa. Elle a été réalisée en laboratoire (projet de fin d'étude) du Département des Sciences Biologiques de la Faculté SNV de l'Université Ziane Achour de Djelfa. Cette étude a été menée sur une période de 4 mois, allant du mois de mars au mois de juin.

**I-1- Prélèvements :**

Afin d'isoler et de déterminer des souches d'*Escherichia coli* pour étudier leur résistance aux antibiotiques, nous avons capturé des échantillons des hérissons dont on a prélevé de la matière fécale dans 3 régions à Djelfa.



**Figure 4 :** Echantillon de matière fécale du hérisson (Originale, 2024).

**I-2- Les caractéristiques des hérissons étudiés:**

- Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Boudibe à Djelfa

La station de Boudibe, C'est loin de la commune Charef avec une distance 10 Km et 40 Km de l'ouest de la ville de Djelfa.

**Tableau N°2 :** Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Boudibe à Djelfa

Code	Date de capture	Sexe	Poids (g)	Age	Couleur des crottes
HB1	09/04/2024	Mal	703.9	Adulte	Vert foncé

- Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Moudjbara à Djelfa. C'est l'une des communes de la wilaya de Djelfa, située au Sud-Est à une distance de 25 km.

**Tableau N°3 :** Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Moudjbara à Djelfa

<b>Code</b>	<b>Date de capture</b>	<b>Sexe</b>	<b>Poids (g)</b>	<b>Age</b>	<b>Couleur des crottes</b>
HM1	19/04/2024	Mal	594.6	Adulte	Vert foncé
HM2	19/04/2024	Femelle	608.4	Adulte	Vert foncé
HM3	01/05/2024	Femelle	345.7	Adulte	Vert foncé
HM4	01/05/2024	Femelle	319.4	Adulte	Vert foncé
HM5	05/05/2024	Femelle	514.4	Adulte	Vert foncé

- Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Tlilat à Djelfa

La station Tlilat se trouve à une distance 11 km au nord du siège municipal de M'liliha et 40 km à l'est de la capitale de la wilaya de Djelfa.

**Tableau N°4 :** Caractéristiques du hérisson prélevé dans la zone Tlilat à Djelfa

<b>Code</b>	<b>Date de capture</b>	<b>Sexe</b>	<b>Poids (g)</b>	<b>Age</b>	<b>Couleur des crottes</b>
HT1	11/05/2024	Femelle	583.4	Adulte	Vert foncé
HT2	11/05/2024	Femelle	655.0	Adulte	Vert foncé

## **II- Isolement et identification des souches :**

### **II-1-Enrichissement :**

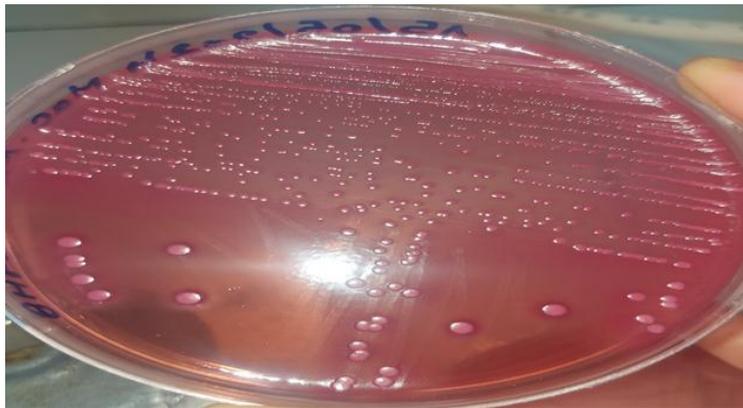
Après avoir apporté les échantillons au laboratoire, nous avons commencé l'étape d'enrichissement dans le bouillon nutritif.

- Dans un tube contenant du bouillon nutritif on met un peu de la matière fécale de hérisson utilisant une pipette pasteur stérile.
- Ensuite, nous avons bien mélangé.
- Enfin, les tubes ont été incubés à 37°C pendant 24 heures.

## **II-2 Isolement:**

Nous avons utilisé une pipette pasteur stérile pour prélever une goutte de culture d'enrichissement, que nous avons ensuite placée sur des boîtes de Pétri contenant du milieu gélose spécifique, MacConkey.

Les boîtes ont ensuite été incubées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.



**Figure 5** : résultat d'isolement des souches sur gélose Mac Conckey (**Originale, 2024**).

## **II-3 Purification:**

La purification consiste à isoler les souches en les transférant successivement sur les mêmes milieux spécifiques (ensemencement par stries) et les incubé à 37°C pendant 24 heures.

## **II-4 Etude macroscopique:**

Dans cette étape, nous étudions la forme, la taille, la couleur et la surface des colonies bien isolées.

## **II-5 Etude microscopiques:**

### **• Coloration de Gram:**

La coloration de Gram est très utilisée en bactériologie médicale, elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuschine (Gram -).

Protocole:

- Placer une goutte d'eau distillée avec une colonie bactérienne dans lame et la fixer à la chaleur du bec bunsen.
- Utilisez du violet de Gentiane pour colorer pendant 1 minute, éliminer le par lavage au l'eau distillée.
- Pour fixer, ajouter du Lugol et laisser agir pendant 1 minute, puis jeter par l'eau distillée.
- Décoloration à l'alcool pendant 30 secondes et rincer à l'eau distillée.
- Recoloration à la Fuschine pendant 1 minute et rincer à l'eau distillée, puis laisser sécher.

Observation:

On effectue l'observation en ajoutant de l'huile à immersion, en augmentant le grossissement (objectif  $\times 100$ ). Les Gram+ (Gram positifs) sont décrits en violet, tandis que les Gram- (Gram négatifs) sont décrits en rose (**Denis et al., 2007**).

## **II-6. Etude biochimique:**

L'identification biochimique consiste à analyser une bactérie en se basant sur ses caractéristiques biochimiques (**Meftah, 2019**).

### **• Préparation de la suspension bactérienne:**

On a réparé une suspension bactérienne en dissociant une colonie, bien isolées sur une gélose Mac Conkey, dans de l'eau physiologique. Par ensemencement.

#### **A. Production d'indole:**

A partir d'une suspension bactérienne, quelques gouttes sont émulsionnées dans le milieu eau peptonée exempte d'indole, puis incubé à 44°C pendant 24h. La production d'indole est révélée par l'addition de quelques gouttes du réactif de Kovacs.

Après l'incubation et après ajout de quelques gouttes du réactif Kovacs, on observe ce qui suit:

- Indole (+) : un anneau rouge apparaît à la surface du centre.
- Indole (-) : Il y a un anneau jaune où le milieu reste sans changement.

#### **B. Réduction de nitrate:**

Ce test a été effectué dans le but d'analyser la réduction des nitrates. En remplissant un tube contenant du bouillon nitraté avec quelques gouttes de suspension bactérienne, l'incubation à 37° C pendant 24h.

Après l'incubation et après l'ajout de quelques gouttes de NR1 et NR2 (nitrate réductase), on observe ce qui suit:

o Lecture:

- L'apparition d'une coloration rouge signifie que le test est positif.
- Si n'est pas changement la couleur au rouge, en ajoute de zinc.
- L'apparition d'une couleur jaune signifie que le test est positif.
- L'apparition d'une couleur rose signifie que le test est négatif.

#### **C. Fermentation du lactose et glucose et la production de gaz et H<sub>2</sub>S:**

Cette approche révèle d'une part la fermentation du glucose (avec ou sans émission de gaz dans le culot) et la production de H<sub>2</sub>S grâce à un noircissement du culot. En utilisant des cultures pures, il est recommandé d'ensemencer dans un milieu TSI (Triple Sugar Iron) (annexe) en utilisant des stries et pique centrale dans le milieu à l'aide d'une pipette pasteur. Après 24 heures d'incubation à 37°C, le milieu rouge (fermentation négative des sucres) et le jaune (fermentation positive) sont obtenus (Meftah, 2019).

o Lecture :

- Fermentation du lactose + : virage au jaune de la pente.
- Fermentation du glucose + : virage au jaune au fond de tube.
- Production de gaz : apparition de bulles et craquement de la gélose.
- Production d'H<sub>2</sub>S : Précipité noir.

#### **D. Recherche de l'utilisation du citrate:**

Pour différencier les bactéries Gram-négatives, nous employons la gélose de citrate de Simmons. Cette méthode évalue la capacité d'utiliser le citrate comme la seule source de carbone.

La gélose de Simens inclinée est ensuiteensemencée par la souche, puis incubée à une température de 37°C pendant 1 à 7 jours. La présence de citrate se manifeste par un changement de couleur du milieu vers le bleu.

o Lecture :

- Citrate (+): virer au bleu
- Citrate (-): pas de virage de couleur (couleur vert).

#### **E. Test catalase:**

Chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives, la catalase est une enzyme qui se spécialise dans la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) avec libération d'oxygène (**Meftah, 2019**).

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte eau oxygénée.
- À l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien.
- Observer immédiatement

o Lecture :

Catalase positive: dégagement immédiat de bulles de gaz.

Catalase négative: absence de dégagement de bulles de gaz.

#### **F. Test oxydase:**

La recherche d'oxydase est une technique d'identification en bactériologie concernant les bactéries à Gram négatif.

Placer un disque oxydase sur lame à l'aide d'une pince flambée, les colonies est ensemence à la surface de disque.

La production de l'oxydase se traduit par une coloration violette intervenant dans 1min.

O Lecture:

- Résultats positive: Virage de la couleur de disque à violet.
- Résultats négative: Pas de virage de couleur de disque.

### **G. Dégradation du lactose:**

Le lactose est dégradé dans le tube digestif, plus précisément dans l'intestin grêle, par une hydrolase, une enzyme appelée lactase (ou  $\beta$ -D-galactosidase), qui l'hydrolyse en glucose et galactose (deux oses) pour déterminés les la présence de ces enzymes on utilise le test ONPG (Ortho Nitro-Phényl-Galactoside).

Dans un tube contient un disque ONPG on ajoute suspension bactérienne, incuber à 37°C pendent 24 h.

o Lecture:

- Résultats positive: Virage de couleur à jaune
- Résultats négative: Pas de virage de couleur

### **III-Etude de la sensibilité aux antibiotiques:**

#### **III-1- Antibiogramme :**

L'antibiogramme est un test de laboratoire visant à déterminer la sensibilité des bactéries à divers antibiotiques. Cela nous permet de savoir quels produits empêchent la croissance bactérienne et lesquels seront efficaces pour traiter l'infection (**Bennacer et Said, 2018**).

#### **III -1-2 Étapes de l'antibiogramme :**

Une suspension bactérienne a été préparée en utilisant 3 ml d'eau physiologique dans un tube stérile avec des colonies pures (Figure 18). Des boîtes de gélose Mueller Hinton sontensemencées par écouvillonnage sont inoculées en essuyant en lignes serrées et en faisant tourner la boîte de 60 degrés jusqu'à ce que la totalité de la plaque soit inoculée (Figure 19). Les disques d'antibiotiques sont placés à l'aide de pinces, laisser sécher 3 à 5 minutes et les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures (Figure 20).

Les différents diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et les résultats ont été comparés aux normes du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (Figure 21).



**Figure 6 :** Ensemencement de la gélose MH (Originale, 2024).



**Figure 7 :** Dépôt les disques d'antibiotiques sur la gélose MH (Originale, 2024).



**Figure 8** : Mesure des diamètres des zones d'inhibition avec pied à coulisse (**Originale, 2024**).

# **Résultats et discussion**

**I-1-Souches bactériennes :**

Au cours de cette étude, un total de 08 échantillons ont été analysés. Ce qui a permis de sélectionner 07 souches pures. Ces souches sont identifiées comme étant des souches *E. coli*. Selon les résultats obtenus par les tests biochimiques qui étaient positifs.

**I-2-Résultats des tests biochimiques :**

Les résultats des tests pour les 07 souches isolées sont les suivants :

**Tableau N° 5:** présentation des caractères cultural et biochimique d'*E. coli*.

<b>Caractères</b>	<b>Résultats</b>
Coloration de Gram	- Des bacilles Gram-.
Production d'indole	- Anaux rouge donc indole ( + )
Réduction de nitraté	- Coloration rouge donc résultats positifs.
Test TSI	- Fermentation du Glucose ( + ). - Fermentation du lactose ( + ). - Production de gaz+. Production de H <sub>2</sub> S ( -- ).
Citrate de Simmons	- Couleur vert donc résultat ( -- )
Catalase	- Catalase ( + ).
Oxydase	- Oxydase ( + ).
ONPG	- Couleur jaune donc résultat (+).

**I-3 -Sensibilité des souches aux antibiotiques :**

La sensibilité de toutes les souches isolées aux antibiotiques testés est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau N° 6:** Résultats de la sensibilité aux ATB des 07 souches isolées sur gélose MH.

Souches	HM2	HM3	HM4	HM5	HM6	HT7	HT8
Acide Nalidixique	S	S	S	I	R	I	S
Kanamicyne	S	S	S	R	R	S	S
Tobramycine	S	S	S	S	R	S	R
Gentamicine	R	S	S	I	R	NT	I
Ticarcillin	R	R	R	R	R	R	R
Amikacine	S	S	S	S	R	S	S
Aztréoname	S	S	S	S	S	S	S
Céfépime	S	S	S	I	S	I	I
Céftazidime	R	R	R	R	R	R	R
Amoxicilline+Clavulanique	I	I	I	I	I	I	I
Image de synergie	+	+	-	-	-	-	-

AMC: Amoxicilline+Clavulanique, CAZ: Céftazidime, ATM: Aztréoname, NA: Acide Nalidixique, TOB : Tobramycine, CN: Gentamicine, FEP : Céfépime, K : Kanamicyne, AK: Amikacine, TIC: Ticarcillin, IPM: Imipenème, S: sensible, R: Résistant, NT : non testé.

\_ D'après ces résultats, il apparaît que, de manière générale, les souches d'*E. coli* montrent une résistance aux antibiotiques : Ticarcillin, Céftazidine.

\_ les souches d'*E. coli* présentent sensibilité vis-à-vis les antibiotiques : Aztréoname, Acide Nalidixique, Amikacine, Céfépime, Tobramycine, Kanamicyne, Gentamicine.

- Toutes les souches d'*E. coli* montrent une résistance intermédiaire aux antibiotiques : Amoxicilline+Clavulanique.

\_ Les isolats HM3, HM4 et HT7 montrent une résistance limitée.

## II- Détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines :

**Tableau N°7 :** . *PE. coli* hénotype de résistance des souches isolées.

Code des souches	Phénotypes	Nombre	% agesPourcent
HM2	CAZ CN TIC	03	30
HM3 , HM4, HM7	CAZ TIC	02	20
HM5	CAZ K TIC	03	30
HM6	AK CAZ CN K NA TIC TOB	07	70
HT8	CAZ TIC TOB	03	30

- \_ Les souches obtenues sont résistantes à au moins 2 jusqu'à 7 antibiotiques.
- \_ La plupart des souches résistantes à trois antibiotiques.

**II-1 Résultats générale des tous les isolats :**

**Tableau N°8 :** Résultats globaux de la résistance de tous les isolats :

<b>ATB les souches</b>	<b>Nombre des souches résistantes</b>	<b>Taux des souches résistantes</b>	<b>Pourcentage de la résistance des r (%) souches</b>
<b>Amikacine</b>	01	1/7	14,28
<b>Gentamicine</b>	02	2/7	28,57
<b>Céftazidime</b>	07	7/7	100
<b>Kanamicyne</b>	02	2/7	28,57
<b>Acide Nalidixique</b>	01	1/7	14,28
<b>Ticarcillin</b>	07	7/7	100
<b>Tobramycine</b>	02	2/7	57,28

-Les résultats démontrent que les souches isolées sont sensibles au bien faible résistance à les antibiotiques: Amoxicilline+Clavulanique, Aztréoname, Céfépime, Acide Nalidixique et Amikacine. Mais résistantes à Céftazidime, Tobramycine, Gentamicine, Kanamicyne, Ticarcillin avec des taux de résistance variant selon les souches, puisque le taux de résistance au Céftazidime et au Ticarcillin a montré un taux élevé de 100 %, puis au Tobramycine au Kanamicyne, et au Gentamicine un taux moyen de 28,57%.

- On remarque que les 07 souches isolées sur gélose MacConnkey présente un taux sensibilité élevé par rapport au taux de résistance.

**II-1 Recherche de la production de BLSE.**

**II-1-1 DD-test :**

Le DD-test effectué sur gélose Muller Hinton pour les souches qui sont déjà identifiées et a révélé la présence deux images de synergie chez deux souches (MH2, MH3)

**(Figure 21).**



**Figure 9** : Résultats du DD-test pour les deux souches HM3, HM2 (**Originale, 2024**).

- **HB** : Souche isolée de la région de **BOUDIB**, **HM** : Souches isolées de la région de MOUDJBARA, **HT** : Souches isolées de la région de TLILA

# **Discussion générale**

## Discussion générale

La résistance aux antibiotiques est aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Le dernier rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dresse à ce sujet un bilan alarmant: l'évolution des résistances aux antibiotiques continue de croître et n'épargne aucun pays, au point que l'absence de traitement efficace contre certaines infections est désormais une réalité (**Eliette, 2018**).

Les hérissons sont de petits animaux qui vivent la nuit et entrent généralement en contact étroit avec les humains (**Biel et al., 2021**). Les hérissons contiennent un large éventail de bactéries pathogènes protozoaires. Un certain nombre d'entre eux sont devenus un problème de santé publique (**Aleksandra et al., 2015**). Ils peuvent être l'hôte ou le réservoir potentiel de nombreux types d'agents bactériens, viraux et parasitaires. Les agents infectieux peuvent être transmis par des vecteurs arthropodes, des aliments contaminés, de l'eau, des excréments et l'environnement (**Kemal et al., 2023**). Ils contaminent également le milieu herbeux avec leurs excréments, où divers agents pathogènes (dont *Salmonella spp*) peuvent être présents. Après cela, une infection humaine peut survenir (directement) provenant d'herbes contaminées par des agents pathogènes ou indirectement par divers vecteurs mécaniques (par exemple chiens, chats) (**Jakub et al., 2021**).

La résistance aux antimicrobiens représente une menace émergente pour la santé publique à l'échelle mondiale, les principaux facteurs de sélection d'agents résistants étant l'utilisation abusive et excessive des antimicrobiens, tant dans le contexte humain qu'animal (**Siboney et al., 2021**).

La majorité des souches d'*E. coli* découvertes dans les excréments de hérisson ont démontré une résistance aux antibiotiques en grande partie. Cela est en accord avec le constat que **Astari et al., (2021)** ont fait (**Astari et al., 2021**).

Les résultats recueillis ont révélé que la majorité des isolats d'*Escherichia coli* entièrement résistantes à la Ticarcilline. Ce résultat ressemblait à celui atteint par (**Astari et al., 2021**).

En ce qui concerne la Cefotaxime, nos recherches ont révélé que les souches d'*Escherichia coli* isolées présentaient une résistance totale. C'est le même que ce qui a été mis en lumière par **Leila et al., (2019)** lors d'une étude menée sur la prévalence, la

diversité et l'apparition de bêta-lactamases par les bactéries intestinales chez la faune sauvage de Catalogne (**Laila et al., 2019**).

Concernant la kanamycine et d'Amikacine, nos résultats ont montré que : les souches isolées *d'E. coli* présentaient une faible résistance comme cette résistance est moindre que celle qu'il a obtenu **Astari et al., (2021)**. Dans une recherche visant à isoler, détecter et examiner la réactivité aux antibiotiques des bactéries isolées, on a constaté une totale résistance aux antibiotiques Amikacine et Kanamycine. (**Astari et al., 2021**).

Une forte prévalence de résistance aux bêta-lactamases a été observée chez les hérissons d'Europe. Cette résistance concerne les bactéries intestinales qui échappent à l'action des bêta-lactamines, spécifiquement chez les hérissons (**Biel et al., 2021**).

Les humains qui ont la possibilité d'entrer en contact direct avec ces animaux et leurs excréments doivent maintenir des mesures d'assainissement et d'hygiène, par exemple en se lavant les mains après un contact direct avec les animaux et leurs excréments (**Astari et al., 2021**).

# Conclusion

## **Conclusion**

Pendant notre étude, nous avons isolée 07 souches d'*Escherichia coli* dans la région de Djelfa, provenant des excréments de hérisson, et nous avons évalué leur sensibilité vis-à-vis de 10 d'antibiotiques avec la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton. Ces souches présentent diverses caractéristiques de résistance. La découverte de ces souches susceptibles de développer une résistance aux antibiotiques peut être préoccupante, car cela pourrait avoir des conséquences sur la santé publique.

Les souches montrent une résistance totale à la CAZ parmi les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines. Concernant les antibiotiques de la famille des aminosides, on observe une résistance modérée au TOB et une faible résistance, dans les mêmes proportions, au CN et au K. La résistance à la ticarcilline est totale, tandis que la résistance aux quinolones NA reste faible.

Suite aux résultats obtenus, il a été observé que la résistance aux antibiotiques est en plein essor et qu'elle est actuellement largement répandue à différentes échelles. Chez l'Homme, l'antibiorésistance est principalement due à l'utilisation abusive des antibiotiques, en particulier par automédication. Néanmoins, elle pourrait se transmettre de l'animal à l'Homme par voie alimentaire. Ce risque de transmission constitue aujourd'hui une préoccupation de santé publique.

La transmission des bactéries résistantes est un phénomène très complexe qui repose sur un écosystème caractérisé par des contacts et des échanges continus entre l'homme, les animaux et l'environnement. La transmission peut survenir par contact direct, indirect via la contamination environnementale ou la consommation d'aliments contaminés.

## **Perspectives**

Ces résultats sont encore préliminaires et il est nécessaire de prendre en compte trois approches différentes pour poursuivre ce projet:

La première consiste à réaliser un échantillonnage plus vaste et sur une période importante entre différentes saisons.

La seconde approche implique de mener une enquête préliminaire adéquate, englobant les antibiotiques utilisés dans les élevages d'animaux .

Les techniques de biologie moléculaire pour la caractérisation des gènes de résistance et le typage des souches sont abordées dans la troisième partie.

# **Références Bibliographiques**

**Références bibliographiques:**

**Aleksandra, K., Arieke, D., Wilma, J., Lucas, M., El, B., Setareh, J., Angela, H., Joke, W., Jeroen, H., Michiel, K., Jenny, K., Yolanda, D., Hein, S., Arnout, B. (2015).** Présence d'agents zoonotiques chez les tiques engorgées et les excréments de hérisson d'*Erinaceus europaeus* en zones (sub) urbaines, Presence of zoonotic agents in engorged ticks and hedgehog faeces from *Erinaceus europaeus* in (sub) urban areas. *Parasites & Vectors*. 8:210. 1-6.

**Alix-Pantel (2015).** Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques, Modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez *Escherichia coli* ST131. Thèse de doctorat. Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé (CBS2) et de l'Unité de Recherche INSERM 1047. Ecole Doctorale 168. *Université de Montpellier*. 33, 06010. 244p.

**Astari, K., Vinsa, C., Yosua, K., Teguh, B., Agnesia, E. (2021).** Test d'isolement, d'identification et de sensibilité aux antimicrobiens de bactéries isolées à partir de l'écouvillonnage rectal du hérisson pygmée africain (*Atelerix albiventris*) et du porc-épic (*Hystrix javanica*), Isolation, identification, and antimicrobial sensitivity test of bacteria isolated from the rectal swab of african pygmy hedgehog (*Atelerix albiventris*) and sunda porcupine (*Hystrix javanica*). *ICAVESS*. 1-8.

**Bennacer, S., Said, A. (2018).** Effet de la Température et de pH sur la zone d'inhibition d'un antibiogramme d'*Escherichia coli* HO25, de *Pseudomonas aeruginosa* HO80 et de *Staphylococcus aureus* HO 90. Mémoire De Master. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre. Département de Biologie. *Université de Ghardaïa*. 103p.

**Bentabet, M, Bourada, F. (2019).** Enquête sur l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire au niveau des régions d'Aïn Timouchent et de Relizane. Mémoire De Master. Institut Des Sciences Vétérinaires. Département De Santé animale. 42p.

**Biel, G., Laia, A., Chiara, S., Nerea, R., Alberto, A., Elena, O., Rafael, A., Molina, L., Laila, D. (2021).** *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* résistants aux  $\beta$ -lactamines à spectre étendu chez les hérissons sauvages d'Europe (*Erinaceus europaeus*) vivant dans des zones peuplées, Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactam Resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Wild European Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) Living in Populated Areas. *Animals*. 11, 2837:1-13.

**Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries, Resistance to Antibiotics and Mechanisms of Action of Essential Oils against Bacteria. *Lavoisier*. 10 : 1-10.

**Burnichon, N., Texier, A. (2003).** L'antibiogramme: la détermination des sensibilités aux antibiotiques. *DES Bactériologie, Semestre été 2003* :1-29.

**Carla, A., Leticia, A., Carmen, S., Carmen, T. (2017).** Nouveaux types de séquences de bêta-lactamase AmpC à spectre étendu et acquise produisant *Escherichia coli* et *Escherichia Clade V* isolées de mammifères sauvages, Novel Sequence Types Of Extended-Spectrum and Acquired AmpC Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* and *Escherichia Clade V* Isolated from Wild Mammals. 1-11.

**Carle, Sylvie Carle. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important, *Pharmactuel*. 42 : 21p.

**Cavalloa, J.-D. Cavalloa; Mérens, A. Mérens. (2007).** Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique et catégorisation clinique Antibacterial spectrum of an antibiotic and clinical categorization. 56 : 300-304.

**Chafika, Mouhoub Sayah. (2009).** Ecophysiologie du Hérisson d'Algérie *Atelerix algirus* (Lereboullet, 1842) (Mammalia, Insectivora) dans quelques stations du Djurdjura et dans la vallée de la Soummam, (Thèse), Ecole nationale supérieure agronomique – El Harrach, Alger.

**Dalila-Djennoune. (2019).** Modes d'utilisation des ressources et des milieux par le hérisson d'Algérie (*Atelerix algirus*) dans divers habitats naturels du nord algérien. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Département de Biologie Animale et Végétale. *Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou*. 173p.

**Denis, F., Poly, M., Martin, F., Bingen, E., Quentin, R. (2007).** Bactériologie médicale: techniques usuelles. Paris. *Masson Elsevier*. 60 p.

**Eliette Schultz – Ascensio. (2018).** Diffusion d'îlots génomiques de multirésistance aux antibiotiques chez *Proteus mirabilis*. Thèse de Doctorat, *Université François – Rabelais de Tours*. 170P.

**Fagan-Garcia K, Denich L, Tataryn JR, Janicki R, Van Osch O, Kearney A, Misfeldt C, Nadon CA, Gaulin C, Mah V, Sandhu R, Waltenburg MA, Adhikari B, Smadi H, Lowe A-M. (2022).** Une éclosion multiprovinciale de *Salmonella typhimurium* au Canada associée à une exposition à des hérissons de compagnie, 2017 à 2020. Relevé des maladies transmissibles au Canada 2022; 48(6) : 311–20.

**Françoise Burgaud. (2018).** Du herisson honni au hérisson blason de la nature. Journ. d'Agric. Trad, et de Bota. AppL, 1996 Vol. XXXVIII (2) : 21-41.23p.

**Guillot J.F. (1988).** Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques 20:3-16p.

**Jakub, J., Mateusz, H., Hanna, T., Malgorzata, P. (2021).** Les hérissons comme source potentielle d'agents pathogènes zoonotiques : examen et mise à jour des connaissances, Hedgehogs as a Potential Source of Zoonotic Pathogens—A Review and an Update of Knowledge. *Animals*. 11, 1754. 1-13.

**Jean-Luc Aboya Moroh. (2013).** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Thèse de Doctorat, *Université de Bretagne occidentale – Brest*.214p.

**Kaddouri-Mohamed Amin (2021).** Ecologie trophique du hérisson du désert *Hemiechinus aethiopicus* ehrenberg 1833 (mammalia : erinaceidae) dans la région de Laghouat. Diplôme de DOCTORAT Département : Zoologie agricole et forestière. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach – Alger.193p.

**Karim Mimoun. (2006).** Insectivorie du Hérisson d'Algérie *Atelerix algirus* (Lereboullet, 1842) dans la forêt de Beni Ghobri (Tizi-Ouzou). Institut National Agronomique El-Harrach.178p.

**Kemal, M., Belgi, D., Handan, Ç. (2023).** Enquête sur les types de *Salmonella* et leur profil de résistance aux antibiotiques et détermination du porteur du parasite chez les hérissons vivant en liberté à Istanbul, Turquie, Investigation of *Salmonella* types and its antibiotic resistance profile and determination of parasite carrier in free-living hedgehogs in Istanbul, Türkiye. *ACTA VET. BRNO*. 92: 1-11.

**Laila, D., Anna, V., Chiara, S., Andreu, A., Alba, C., Ferran, L., Rafael, A., Lourdes, M. (2019).** Prévalence élevée et diversité de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu et émergence

d'entérobactéries productrices d'OXA-48 dans la faune sauvage de Catalogne, High prevalence and diversity of extended spectrum  $\beta$ -lactamase and emergence of OXA-48 producing Enterobacterales in wildlife in Catalonia. *PLOS ONE*. 1-15.

**L. Dortet, L. Poirel, P. Nordmann.(2013).** Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmes. *feuilles de Biologie*. Vol Liv n° 312 : 1-12.

**Madec, J.-Y. (2013).** Résistance aux antibiotiques chez l'animal : quel risque pour l'Homme? *J. Anti-Infect.* 15 : 178–186.

**Marion-Opatowski.(2020).**Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé. Thèse de doctorat. École doctorale n° 570, Santé Publique (EDSP). *Université Paris-Saclay*.189p.

**Medjad Hanane. (2020).** La flore intestinale. Mémoire De Master. Faculté Des Sciences Biologiques Et Des Sciences Agronomiques. Département De Biochimie-Microbiologie. *Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou*.62p.

**Meftah-Selsabi. (2019).** Isolement et sélection d'une souche bactérienne dégradant le son de blé à partir l'eau de Hamem El Hajeb (Biskra). Mémoire De Master, Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie. Département des sciences de la nature et de la vie. *Université Mohamed Khider de Biskra*. 49p.

**Mennessier-Katy. (2013).** Mode De Vie Et Alimentation Du Hérisson D'europe (*Erinaceus Europaeus*). Thèse de doctorat. Ecole Nationale vétérinaire. *Université Paul-Sabatier de Toulouse*. 23p.

**Meribai-Boughelit N. (2023).** Contribution à l'étude de l'entomofaune et relation trophique de quelques vertébrés et endoparasites de la bécasse des bois *Scolopax rusticola*L., 1758(Aves, Scolopacidae) dans une aire protégée (Parc National de Djurdjura). Mémoire De Master. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques.Département d'agronomie.445p.

**Mouhoub-Sayah. Ch. 2009.** Ecophysiologie du Hérisson d'Algérie *Atelerix algirus* (Lereboullet, 1842) (Mammalia, Insectivora) dans quelques stations du Djurdjura et dans la vallée de la Soummam. Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique – el harrach - Alger.140p

**Muylaert, A., Mainil, J.g. (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur «contagiosité». Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, *Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège. 156: 109- 123p.*

**Naimi-Emitelli. (2022).** L'utilisation des antibiotiques dans la production avicole (Cas poulet pondeuse). Mémoire De Master. Faculté Sciences de la Nature et de la Vie, Département d'Agronomie, *Université Mohamed Khider de Biskra. 73p.*

**Nicolas-BACLET. (2020).** Définitions explicites de prescriptions potentiellement inappropriées d'antibiotiques chez la personne âgée hospitalisée : développement d'un consensus d'experts. Thèse de Doctorat. Ecole Doctorale Biologie-Santé. *Université de Lille.165p.*

**Ouhocine Fatima. (2016).** Variation du régime alimentaire et des disponibilités trophiques du Hérisson d'Algerie (*Atelerix algirus*) dans la forêt de Béni Ghobri (Yakourene). Mémoire De Master. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. *Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.81p.*

**Pascal-Sanders. (2005).** L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale, Antibiotic resistance in veterinary medicine: impact on public health and animal health. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France. 158 - N°2:137-143.

**Pierre-Yves, Savard. (2008).** Caractérisation structurale et dynamique de la bêta-lactamase tem-1 de la bactérie *Escherichia coli* par rnm liquide). Thèse de doctorat. Faculté Des Science et de Génie, Département de biochimie et de microbiologie. *Université Laval. 247p.*

**Quentin Le Bastard. (2023).** Impact de l'antibiothérapie des pyélonéphrites aiguës communautaires sur le portage digestif d'entérobactéries sécrétrices de BLSE: étude sur un modèle expérimental murin et analyse longitudinale de son impact sur le microbiome intestinal. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale N° 605.145p.

**Sanders, P., Bousquet-Melou, A., Chauvin, C., Toutain, P.L. (2011).** Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRA Productions Animales. 24, 2: 199-204.*

**Saputra, S., Jordan, D., Mitchell, T., Wong, H.S., Abraham, R.J., Kidsley, A., Turnidge, J., Trott, D.J. and Abraham, S. (2017).** Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolated from companion animals in Australia. *Veterinary Microbiolog.* 211: 43-50.

**Siboney, P., Marlen, B., Patricio, R. (2021).** Détection de souches de *Salmonella enterica* résistantes aux antimicrobiens dans les échantillons de hérissons terrestres (*Atelerix albiventris*) élevés comme animaux de compagnie dans la zone urbaine de Santiago, Chili, Detection of antimicrobial resistant *Salmonella enterica* strains in samples of ground hedgehogs (*Atelerix albiventris*) reared as pets in the urban area of Santiago, Chile. *Austral J Vet Sci.* 53 :1-6.

**Stéphanie-Faure. (2009)** Transfert d'un gène de résistance aux  $\beta$ -lactamines *bla*CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: impact d'une antibiothérapie. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale: Vie-Agro-Santé. Science de la vie et de l'environnement. *Université de Rennes 1.* 191p.

# **Annexes**

**Annexe N° 01:**

❖ **Matériels utilisés:**

Matériels de prélèvements:

- Flacons stérile.
- Les gans.
- Ecouvillons stériles.
- Marquer pour identifier les flacons et les écouvillons.

• **Matériel de stérilisation :**

Bec Bunsen, autoclave.

• **Matériel des préparations :**

Agitateurs, balance, éprouvette graduée, erlenmeyer, aluminium spatule, l'eau distillée .

• **Matériel d'incubation :**

étuves à 37°C et 44°C.

• **Matériel divers :**

béchers, porte-tubes, boîtes de Pétri, pipettes Pasteur,  
flacons, réfrigérateur, pince, microscope optique,  
lames, tube a vise, entonnoir, anse de platine, chauffe ballon, pissette, portoirs.

• **Milieu de culture :**

Mueller-Hinton, MacConkay, gélose nutritive, Triple Sugar Iron, citrate de Simmons.

• **Les bouillons :**

Bouillon nutritive, bouillon Nitrate, eau peptone exempt indole, l'eau physiologique.

• **Les réactives :**

Nitrate réductase 1 et 2, kovaces.

• **D'autres produits :**

Les disques d'antibiotiques, disques ONPG, violet de Gentiane, Lugol, l'alcool, Fuschine, écouvillons, disques oxydase, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tétine l'eau de javel.

**Annexe N° 02:**

Composition des différents milieux des cultures utilisés (Pour 1l d'eau distillée) et les réactifs:

**- Gélose MacConkey:**

Macconkeypharm..... 50g.  
Eau distillée q.s.p.....1000ml.  
PH=7.6

**- Gélose Nutritive:**

Nutrient Agar.....28g.  
Eau distillée q.s.p.....1000ml.  
PH=7.4.

**- Milieu TSI:**

Triple sugar iron agar (TSI)..... 64.6.  
Eau distillée q.s.p .....1000ml.  
pH = 7,4.

**- Milieu Citrate de Simmons:**

Simmons citrate agar .....24.3g.  
Eau distillée q.s.p .....1000ml.  
pH = 6,9.

**- Gélose Mueller –Hinton:**

Muller-HintonAgar.....38g.  
Eau distilléeq.s.p.....1000ml  
PH =7,4

**- Bouillon Nutritive: BHI BROTH (Brain heart infusion broth)**

Extrait de viande..... 1g.  
Extrait de levure.....2g.  
Na Cl.....5g.  
Peptone .....5g.  
Eau distillée q.s.p.....1000ml

---

PH=7.6.

**- Bouillon Nitrate:**

Peptone de viande.....10g.  
Extrait de viande.....5g.  
Chlorure de sodium .....5g.  
Nitrate de potassium.....1g.  
Eau distillée q.s.p .....1000ml

pH =7.

**-Bouillon Eau Peptonée Exempte d'indole :**

Bouillon Eau Peptonée Exempte d'indole.....25g.  
Eau distillée q.s.p.....1000ml.

pH =7,2.

**Eau physiologique :**

Na C.....19g.  
Eau distillée q.s.p.....1000ml.

PH=7.5.

**- Réactif de Griess I (NRI) :**

Acide parasulfanilique.....8g.  
Acide acétique 5N.....11g.

**- Réactif de Griess II (NRII) :**

$\alpha$ -naphthylamine.....6g.  
Acide acétique 5N.....11g.

**- Réactif de Kovacs:**

Alcool amylique.....5g.  
Paradiméthylamino-benzaldéhyde.....75 ml.  
HCL pur .....25 ml.

**Annexe N° 03:**

Résultats de l'antibiogramme des souches isolées de Boudibe, Moudjbara, Tlilat.

<b>Souches</b>	<b>HM2</b>	<b>HM3</b>	<b>HM4</b>	<b>HM5</b>	<b>HM6</b>	<b>HT7</b>	<b>HT8</b>
<b>Acide Nalidixique</b>	26	27	22	15	05	17	24
<b>Kanamicyne</b>	20	20	20	05	05	20	19
<b>Tobramycine</b>	18	18	18	17	16	18	16
<b>Gentamicine</b>	12	18	18	16	13	NT	16
<b>Ticarcillin</b>	20	22	7	05	13	8	05
<b>Amikacine</b>	19	19	20	20	15	19	19
<b>Aztréoname</b>	30	32	34	30	31	30	30
<b>Céfépime</b>	28	28	28	26	28	26	26
<b>Céftazidime</b>	05	9	05	05	7	10	7
<b>Amoxicilline+Clavulanique</b>	14	13	05	05	05	10	7

## Annexe N°04 :

Antibiotiques testés pour les souches analysées (Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative en médecine vétérinaire pour Enterobacterales) (CASFM – VET-2023).

Antibiotiques	Abréviation	Charge (µg)	Famille	Diamètres critiques (mm)	
				S≥	R<
Acide Nalidixique	NA	30	Quinolone	20	15
Tobramycine	TOB		Aminoside	16	16
Gentamicine	CN	15	Aminoside	18	16
Aztréonam	ATM	30	β-lactamines	26	21
Céftazidime	CAZ	30	Céphalosporine	22	19
Amoxicilline clavulanate	AMC	20-10	β-lactamines	21	14
Amikacine	AK	30	Aminoside	18	18
Ticarcillin	TIC	75		23	23
Kanamicyne	K	30	Aminoside	17	15
Céfépime	FEP	30	Céphalosporine	27	24

## المخلص

في عملنا، تم جمع 08 عينات على مستوى ثلاثة مناطق (بوذيب، مجبارة، تليلات) من ولاية الجلفة بغرض عزل وتحديد البكتيريا المقاومة من فضلات القناذف بعد عزل السلالات الموجودة على جيلوزماكونكي. تم عزل 07 سلالة من العصيات القولونية وقد تم اختبار حساسيتهم بواسطة 10 مضادات حيوية على جيلوزميلار هينتون. هذه السلالات لها ملامح مختلفة المقاومة. حيث اظهرت معدل المقاومة CAZ, TIC, بنسبة عالية 100% ثم TOB, K, CN بنسبة متوسطة 28,57% اما بالنسبة لNA, AK, بنسبة معدل مقاومة منخفضة.

**الكلمات المفتاحية :** المضادات الحيوية، مقاومة المضادات الحيوية، الجلفة، القنفذ.

## **Résumé**

Dans notre travail, 08 échantillons ont été collectés dans trois régions (Boudibe, Moudjbara, Tlilat) de la Province de Djelfa dans le but d'isoler et d'identifier les bactéries résistantes des fientes de hérisson après isolement des souches présentes sur Gélose MacConkey. 07 souches de bacilles coliformes ont été isolées et leurs. La sensibilité à 10 antibiotiques a été testée. Sur Gélose Mueller –Hinton, ces souches ont des profils de résistance différents, puisque le taux de résistance au CAZ et au TIC a montré un taux élevé de 100 %, puis au TOB, au K et au CN un taux moyen de 28,57 %. NA et AK, le taux de résistance était faible.

**Mots clés:** Antibiotiques, Résistance aux antibiotiques, Djelfa, Hérisson.

## **Abstract**

In our work, 08 samples were collected in three regions (Boudibe, Moudjbara, Tlilat) of Djelfa Province for the purpose of isolating and identifying resistant bacteria from hedgehog droppings after isolating the strains present on Macconkey Agar. 07 strains of coliform bacilli were isolated and their sensitivity to 10 antibiotics was tested. On Mueller-Hinton Agar, these strains have different resistance profiles, as the resistance rate to CAZ and TIC showed a high rate of 100%, then TOB, K, and CN showed an average rate of 28.57%, while for NA and AK, the resistance rate was low.

**Keywords :** Antibiotics,Resistance to antibiotics, Djelfa, Hérisson.