

Sommaire

<i>DEDICACES</i>	i
<i>REMERCIEMENTS</i>	ii
<i>RESUME</i>	iii
<i>LISTE DES TABLEAUX</i>	iv
<i>LISTE DES FIGURES</i>	iv
<i>LISTE DES ABREVIATIONS</i>	v
<i>INTRODUCTION</i>	1

Chapitre I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Entérocoques	2
1. Généralités	2
2. Historique	2
3. Classification :	3
3.1. Classification microbiologique :	3
3.2. Classification phénotypique :	3
4. Groupes des entérocoques	3
5. Facteurs de virulence	5
II. Résistance bactérienne aux antibiotiques	6
1. Définition des antibiotiques	6
2. Modes d'action des antibiotiques	6
3. Classes d'antibiotique	6
4. Résistance bactérienne	8
4.1. Définition de la résistance bactérienne	8
4.2. Types de résistance	8
4.3. Types de mécanismes de résistances	9
III. Résistance chez les entérocoques selon les classes d'antibiotiques	11
1. B-lactamines	11
2. Aminosides:	11
3. Macrolides, Lincosamides, Streptogramines	12
4. Glycopeptides	12
5. Céphalosporines	13
6. Autres antibiotiques	13

Chapitre II: MATERIELS ET METHODES

1. Type d'étude.....	15
2. Lieu d'étude et échantillonnage	15
3. Analyses bactériologiques.....	15
3.1. Mise en culture des entérocoques	15
3.2. Identification des entérocoques	16
3.2.1. Coloration de Gram	16
3.2.2. Test de l'hémolyse	16
3.2.3. Test de catalase.....	17
3.2.4. Test de bile esculine	17
4. Antibiogramme	18

ChapitreIII: RESULTATS ET DISCUSSION

1. Répartition des germes en fonction de leur origine.....	21
2. Identification des souches	21
3. Résistance chez les entérocoques selon l'origine.	23
4. Résistance chez les entérocoques selon les classes d'antibiotiques	24
CONCLUSION.....	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	27
ANNEXES	

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à:

Mes chers parents, source de ma joie, secret de ma force. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Que Dieu vous donne la santé et une longue vie.

Mes frères Mehdi, Saad que j'aime profondément. En témoignage de mon affection fraternelle, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège.

Mes amis Othmane ,Meriam , Rhita , en souvenir des moments passés ensemble, Merci pour les précieux encouragements , votre soutien et de votre serviabilité. Que le grand dieu vous offre un avenir plein de réussite .

Tous les formateurs et encadrants de la Licence biologie et santé qui ont contribué à ma formation.

Et à tous ceux qui ont veillé à ce que ce travail soit à la hauteur.

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous rendons grâce à dieu de nous avoir accordé la vie, la santé, le courage et la force de réaliser ce travail.

A l'issue de ce travail, je tiens tout d'abord à exprimer mon grand respect à mon encadrante Madame EL ABED Soumya , Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour sa disponibilité, sa gentillesse, ses conseils et son aide si précieux.

J'adresse ma reconnaissance à Pr. BENNANI Bahia , Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès pour avoir accepté de diriger ce travail, je lui adresse tous mes remerciements pour sa compréhension, son respect et son attention.

Je remercie également Pr. IRAQUI Mohammed , Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès , d'avoir accepté de juger et d'évaluer mon travail, je lui manifeste ma profonde gratitude.

J'adresse pareillement mes remerciements à Mlle BENJELLOUN Ghita , qui m'a beaucoup aidé durant mon stage, je lui adresse tous mes remerciements pour ces efforts, et ses précieux conseils ainsi que sa disponibilité et sa gentillesse.

Enfin, je voudrais remercier tous les enseignants de la FST qui ont contribué à ma formation pendant cette année et particulièrement aux enseignants de la licence sciences biologiques appliquées et Santé.

Que tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail. Qu'ils trouvent l'expression de mes remerciements les plus chaleureux.

RESUME

En médecine vétérinaire comme en médecine humaine, l'utilisation irrationnelle des antibiotiques a conduit à l'apparition de résistances des bactéries.

L'objectif du présent travail est d'étudier les caractéristiques phénotypiques de la résistance aux antibiotiques des isolats d'entérocoques d'origine alimentaire. Notre étude réalisée à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès (FMPF) au Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire durant 2 mois a porté sur l'identification de 41 isolats d'entérocoques isolés du service de restauration hospitalier et l'étude de leur profil de résistance vis-à-vis de chaque famille d'antibiotiques .

Le profil d'antibio-résistance a révélé une multi-résistance à la plupart des antibiotiques testés en particulier des Sulfamides et des tétracyclines. Une bonne activité pour les quinolones et les glycopeptides a été également enregistré.

Des mesures de prévention de la dissémination de cette résistance doivent être mise en place afin de lutter contre la diffusion de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Mots clés : Aliments, entérocoques, antibiotiques, multiresistance, restauration.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification microbiologique des entérocoques.....	4
Tableau 2 : Classification des streptocoques et leurs caractéristiques.....	5
Tableau 3 : Facteurs de pathogénicité des infections streptococciques.....	6
Tableau 4 : Classification et spectre d'action des antibiotiques.....	8
Tableau 5 : Répartition des points de prélèvement.....	16
Tableau 6 : Interprétation de la sensibilité et de la résistance d'une souche vis-à-vis des ATB utilisés (CASFM 2018).....	20

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition des prélèvements selon les origines.....	21
Figure 2 : Identification phénotypique des prélèvements d'après le test d'hémolyse.....	22
Figure 3 : Répartition des streptocoques d'après le test BEA.....	22
Figure 4 : Résistance selon l'origine des prélèvements.....	23
Figure 5 : Profil de résistance et de sensibilité globale vis-à-vis des antibiotiques.....	24

LISTE DES ABREVIATIONS

ATB.....	Antibiotique
ARN.....	Acide ribonucléique
ARNr.....	Acide ribonucléique ribosomique
BHI.....	Brain Heart Infusion
BGN.....	Bactérie à gram négative
BEA.....	Bile Esculine Agar
CMI.....	Concentration Minimale d'Inhibition
CASFM.....	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
LAB.....	Lactique Acide Bactérie
LCP.....	Liquide cérébrospinal
MDR.....	Multiple-Drug-Resistance
MLS.....	Macrolides Lincosamides Synergisines
PLP.....	Protéines Liant les Pénicillines
SGA.....	Streptocoques du Groupe A
SGB.....	Streptocoques du Groupe B
SDR.....	Specific-Drug-Resistance
TTC.....	Chlorure de 2-3-5 Triphényl-Tétrazolium
Col.bvh.....	Collège de Bactériologie de Virologie et d'Hygiène des hôpitaux

INTRODUCTION

Pendant des siècles, les entérocoques ont été employés pour la conservation et la fermentation des aliments du fait qu'ils contribuent à l'amélioration des propriétés de conservation de certains produits alimentaires. Leur nature ubiquiste rend possible leur capacité d'adaptation à divers environnements et aux procédés technologiques de transformation des aliments. Cependant, ces dernières années, ils font l'objet d'une attention particulière pour leur incidence dans les maladies nosocomiales et leur émergence bactérienne à de multiples antibiotiques. Toutefois, cette prévalence plus élevée est généralement associée aux méthodes de préparation et en particulier au manque d'hygiène personnelle chez les manipulateurs .

Cette émergence nous conduit à parler de la multirésistance intrinsèque à de nombreux antibiotiques dont le traitement de l'infection pourrait être difficile et l'inquiétude grandit.

A l'heure actuelle, les patients sont traités grâce à un cocktail d'antibiotiques qui se montre encore suffisamment efficace. Mais pour combien de temps ?

Les entérocoques ne représentent toutefois pas un risque pour la population immunocompétente et devrait être considéré non seulement en tant que pathogènes potentiels, mais aussi en tant que réservoir de gènes codant pour la résistance aux antibiotiques qui peuvent être transférés à d'autres micro-organismes pathogènes et non pathogènes.

Il y a peu de connaissances sur la résistance aux antibiotiques des souches d'entérocoques existant dans les communautés et dans les aliments, tandis que les souches provenant de spécimens cliniques ont été largement étudiées.

De ce fait, le but de cette étude était de développer les connaissances sur les antibiotiques et la résistance des entérocoques détectées dans les aliments. Et enfin souligner sur la surveillance continue de leur incidence dans les aliments afin d'identifier ceux qui peuvent présenter un risque pour la population.

Chapitre I:

Revue bibliographique

I. Les entérocoques

1. Généralités

Les infections entérocoquiques demeurent l'une des grands chapitres de la pathologie infectieuse. Elles sont parmi les organismes les plus répandus associés aux infections nosocomiales et considérés en tant que troisième pathogène le plus souvent isolé des infections sanguines (1), ainsi que fréquemment signalé dans les infections du site opératoire dans les unités de soins intensifs (2). Ses derniers comme étant des bactéries lactiques typiques (LAB) ainsi que leur tolérance vis-à-vis d'un large éventail de conditions physiques et chimiques sont importants en microbiologie clinique.

Ce sont des micro-organismes omniprésents. Leur habitat est diversifié et présentent une prédominance au niveau des voies gastro-intestinales des humains et des animaux. Ils peuvent contaminer l'environnement, le lait ou la viande au moment de l'abattage (2). Les entérocoques peuvent non seulement contaminer les viandes crues, mais ils peuvent aussi être associés aux viandes transformées. La cuisson des viandes transformées peut conférer un avantage sélectif aux entérocoques (1), puisque ces bactéries sont parmi les plus thermotolérantes des bactéries non sporulantes(3).

Néanmoins, les entérocoques sont de grande utilité technologique dans la production de divers aliments fermentés, tels que les saucisses et les fromages et surtout le lait cru (4), où ils sont soit intentionnellement ajoutés au produit en tant que cultures starter ou lorsque leur présence résulte d'une contamination de l'environnement (1), comme étant des marqueurs d'un manque d'hygiène dans la chaîne agro-alimentaire(4).

2. Historique

En 1980, les entérocoques étaient, à l'origine, rattachés au genre *Streptococcus*(2), et classés dans le groupe D, car ils présentent très souvent, à leur surface, l'antigène D de la classification de Lancefield. C'est la raison pour laquelle la taxonomie des entérocoques pose généralement un problème puisqu'ils appartiennent au groupe des bactéries à Gram positif, catalase négatif partageant de nombreuses caractéristiques avec les genres *Streptococcus* et *Lactococcus* sur la base de la classification actuelle ainsi que l'étude sérologique (3). Comme indiqué précédemment, l'identification des entérocoques a toujours été problématique. De nombreux isolats d'entérocoques, en particulier provenant d'une source environnementale, restent souvent non identifiables lorsque leur identification est basée sur les traits phénotypiques seulement. Il est difficile de catégoriser sans équivoque les isolats en une

espèce d'Entérocoques par des tests physiologiques, car l'hétérogénéité des caractères phénotypiques est très élevée, quelle que soit l'origine de l'isolat(2)

Par conséquent, les bactéries précédemment nommés *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus avium* et *Streptococcus gallinarum* ont été transférés en 1984 au genre révisé *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus avium* et *Enterococcus gallinarum*, respectivement (2).

3. Classification :

Depuis une dizaine d'années, la classification des espèces constituant ce genre connaît des modifications importantes selon :

3.1. Classification microbiologique :

Le tableau 1 ci-après résume la classification microbiologique des entérocoques (1) :

Règne	Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Streptococcus

3.2. Classification phénotypique :

La classification phénotypique peut être divisée selon :

-La morphologie : groupement des Cocci, la présence d'une capsule et l'aspect des colonies.

-Le type d'hémolyse :

- hémolyse incomplète : verte, streptocoques α -hémolytiques.

- hémolyse complète : clair, streptocoques β -hémolytiques

- pas d'hémolyse : streptocoques non hémolytiques.

4. Les groupes des entérocoques

Plus récemment, l'utilisation d'un ensemble de critères taxonomiques ainsi que le séquençage du gène de l'ARNr 16S ont servi de subdiviser les *Streptocoques* en 5 groupes.

Le tableau 2 regroupe les différents groupes des streptocoques et leurs caractéristiques :

Tableau 2 : Classification des streptocoques et leurs caractéristiques.

Groupes	Hémolyse	Habitat	Pouvoir pathogène
S. pyogènes (SGA)	type β	Peau , Muqueuses des voies respiratoires et des voies génito- urinaires	Pharyngites ou Angines Fièvres rhumatismales, Glomérulonéphrite aiguë Lésions cutanées, Cellulite nécrosante
S. agalactiae (SGB)	type β	Vagin	Méningite néonatale Infections cutanées, urinaires ou génitales chez l'adulte
S. oraux	type α	Oropharynx Muqueuses génitales ou intestinales	Pneumopathies avec syndrome de détresse respiratoire chez certains malades
S. du groupe D (SGD)	type α	Intestin	Septicémie, <u>endocardite</u> infections urinaires,
S. pneumoniae	type α	Muqueuses rhinopharyngée	<u>Pneumonies</u> , <u>bronchites</u> , conjonctivites, endocardites infections ORL

Et en plus de 20 espèces, parmi les entérocoques les plus fréquent , on trouve :

- *E. faecalis* , l'espèce la plus fréquemment isolée de prélèvements cliniques humains .
- *E. faecium* : associé à la majorité des infections entérococciques , constituant une menace plus importante pour les antibiotiques (5).

D'autres espèces sont moins fréquemment isolées chez l'homme comme *E. durans*, *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. cecorum*, *E. dispa*, *E. gilvus*, et *E. pallens*(2) .

5. Facteurs de virulence

Pour provoquer une infection, les entérocoques doivent avoir des facteurs de virulence qui permettent l'infection des souches pour coloniser le tissu hôte ainsi que l'envahir.

Ensuite le transloquer à travers les cellules épithéliales pour pouvoir échapper à la réponse immunitaire des hôtes. En outre, ces souches virulentes doivent produire des changements pathologiques soit directement par la production de toxines ou indirectement par l'inflammation. Au cours des dernières années, des progrès considérables ont été réalisés dans la détermination des caractères de virulence (1).

Tableau 3 : Facteurs de pathogénicité des infections streptococciques (6).

Déterminant de la virulence	Association avec le stade de la virulence
Substance d'agrégation (AS)	Adhérence aux cellules eucaryotes, le processus conduit à la formation de grands agrégats conjugatifs constitués de cellules bactériennes, ce qui facilite l'échange de matériel génétique entre les cellules. En présence d'un ligand spécifique et donc favorise la colonisation Invasion de cellules eucaryotes (invasine) Adhérence aux protéines de la matrice extracellulaire (peut promouvoir la translocation) Augmente la survie dans les cellules immunitaires (évasion de la réponse immunitaire de l'hôte)
Cytolysine	Exotoxine de type bactériocine
Protéine de surface entérococcique	Adhésine, favorise la colonisation
Phéromones	Cause une inflammation, et induit à la production de superoxyde.
Superoxyde et peroxyde d'hydrogène	Peut causer des dommages aux cellules / à l'ADN, améliore la colonisation
Capsule	Évasion de la réponse immunitaire de l'hôte
Gélatinase	Métalloendopeptidase extracellulaire dépendante du zinc. C'est le facteur de virulence le plus fréquent. Il peut hydrolyser divers peptides biologiques, tels que la gélatine, l'élastine, le collagène, l'hémoglobine ainsi que d'autres peptides bioactifs ainsi que les peptides antibactériens (évasion de la réponse immunitaire innée de l'hôte)

II. La résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques, élaborés par des micro-organismes ou par synthèse chimique, capables d'inhiber la multiplication (bactériostatique) ou de détruire (bactéricide) des bactéries (7).

Ils ont pour but de diminuer ou de stabiliser la quantité de bactéries présentes au niveau du site infectieux et d'aider les cellules du système immunitaire à entamer le processus de guérison. L'utilisation effrénée des antibiotiques chez l'homme et l'animal a créé une pression de sélection sur les bactéries et a favorisé l'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques. Ceci est un véritable problème de santé publique (8).

2. Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie par quatre principaux modes d'actions qui sont (8) :

- Inhiber la synthèse de la paroi bactérienne, c'est-à-dire inhiber la synthèse du peptidoglycane
- Inhiber la synthèse de la membrane cytoplasmique
- Inhiber la synthèse de l'ADN bactérien
- Inhiber la synthèse de protéines bactériennes

3. Classes d'antibiotique

Il existe plusieurs familles d'antibiotiques, leur classification, leur mode d'action et leur spectre sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Classification et spectre d'action des antibiotiques (7).

Classe	Mode d'action	Diffusion	Spectre d'activité	Cible
Bêtalactamines	Bactéricides	diffusent bien dans tout l'organisme à l'exception du liquide cébrospinal	Large	Paroi
Céphalosporines				
Fluoroquinolones	Bactéricides	large diffusion dans l'organisme surtout dans l'os	Large	ADN
Glycopeptides	Bactéricides	diffusion tissulaire bonne mais inconstante dans le LCS	Etroit	Paroi
Aminosides	Bactéricides	franchissent difficilement les barrières de l'organisme	Large	Ribosome
Macrolides, Lincosamides Streptogramines	Bactériostatiques	Bonne diffusion tissulaire	Etroit	Ribosome
Sulfamides	Bactériostatiques	diffusent très largement	Large	Synthèse de l'acide folique

4. Résistance bactérienne

4.1. Définition de la résistance bactérienne

La résistance n'est pas un phénomène conjoncturel ou passager mais une propriété intrinsèque du monde bactérien (24). La définition de la résistance aux antibiotiques est encore à l'heure actuelle sujette à de nombreuses discussions. Ainsi, la résistance aux antibiotiques est définie selon différents points de vue (25). Selon le clinicien, une souche est résistante à un antibiotique si le traitement n'est pas efficace.

- ✓ Du point de vue du microbiologiste, les bactéries sont dites résistantes si elles disposent d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la CMI
- ✓ Concernant l'épidémiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si sa CMI est significativement différente de celle de la population normale.

Face à cette ambivalence des définitions de la résistance, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a suggéré à son tour une définition de la résistance qui énonce qu'une souche est dite « résistante » quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

4.2. Types de résistance

La résistance bactérienne peut être selon plusieurs types. On distingue :

- **La résistance naturelle** ou appelée résistance intrinsèque, est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce, sur lesquelles l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique.
Par ailleurs chez les mycoplasmes par l'absence de paroi bactérienne qui leur confère une protection innée et les rend inactifs contre certains ATB (9).
- **La résistance acquise**, dans ce cas, ce type de résistance n'est présent que chez certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger (9).
- **La résistance mutationnelle**, C'est un phénomène rare, stable, dû au hasard, transmissible uniquement de façon verticale de bactérie mère à bactéries filles. L'antibiotique donc révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'ATB (10) .

- **La résistance extra-chromosomique** ou plasmatique, est la conséquence d'un transfert horizontal entre espèces éloignées phylogénétiquement. Les gènes de résistance peuvent s'associer aux plasmides, soit par le système de recombinaison homologue de la cellule, soit encore par des mécanismes spécialisés tels que les transposons et les intégrons. Une fois le gène de résistance présent sur le plasmide, il peut être transmis à toutes les espèces faisant partie de la gamme des cellules hôtes du plasmide (11).
- **La résistance croisée**, correspond à un seul mécanisme de résistance et entraîne la résistance à tous les antibiotiques d'une même famille (12).
- **La co-résistance**, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun des mécanismes confère par résistance croisée la résistance à un groupe d'antibiotique conférant à la bactérie un large spectre de résistance (12).
- **La multirésistance**, il s'agit d'une terminologie très couramment utilisée même si elle ne répond pas à une définition univoque. Il est d'usage de parler de multi-résistance face à une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique ou face à une bactérie sensible à moins de 3 familles d'antibiotiques (10).

4.3. Types de mécanismes de résistances

Différents mécanismes ont été développés par les bactéries afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, décrits comme suite :

a) *Perméabilité réduite*

Contrairement aux bactéries à Gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycane que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries à Gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable.

Les mutations que peuvent surgir au niveau des porines sont à l'origine de résistances acquises empêchant ainsi l'antibiotique de traverser la paroi et donc d'atteindre sa cible.

Tel est l'exemple des β -lactamines, comme étant des molécules hydrophiles leur pénétration s'effectue à travers la membrane, leur sensibilité dépend du nombre de porines synthétisées et fonctionnelles (9).

b) Résistance à médiation enzymatique

Les bactéries produisent des enzymes qui altèrent chimiquement les antibiotiques et les rendent ainsi inactifs: c'est le cas des B-lactamases hydrolysant l'anneau B-lactame des pénicillines et des céphalosporines, le mécanisme le plus répandu de résistance à la pénicilline.

D'autres enzymes inactivent des molécules d'antibiotiques en y ajoutant des groupements chimiques: à titre d'exemple, les aminosides peuvent être inactivés par phosphorylation, adénylylation ou acétylation (11).

c) Altération de la cible

Des bactéries peuvent produire des protéines structurales ou des enzymes se substituant aux protéines qui sont les cibles normales des antibiotiques. La cible de l'antibiotique est alors structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie.

Il représente le mécanisme de résistance décrit pour la plupart des antibiotiques, particulièrement pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries à Gram positives, c'est donc la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'ATB (9).

Citons comme exemple :

Les PLP ou "protéines liant les pénicillines" sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne) et qui sont la cible des bêta-lactamines.

En se fixant aux PLP les bêta-lactamines les empêchent de jouer leur rôle ; la synthèse du peptidoglycane est donc entravée (10).

d) Expulsion des antibiotiques

Les bactéries produisent souvent des protéines transmembranaires agissant comme pompes moléculaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs capables d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce un canal, cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique.

On classe ces pompes à efflux selon leur spécificité de substrats et leur source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR pour (specificdrug-resistance), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour multiple-drug-resistance) (9).

III. Résistance chez les entérocoques selon les classes d'antibiotiques

Les entérocoques occupent une place importante en pathologie nosocomiale du fait que ces micro-organismes présentent très souvent une résistance multiple aux antibiotiques. Cette résistance est soit naturelle soit acquise, c'est ce que nous allons développer pour chaque classe d'antibiotique.

1. B-lactamines

1.1. Résistance naturelle

Les résistances intrinsèques aux antibiotiques comprennent la résistance aux β -lactames, ainsi qu'aux pénicillines en particulier la pénicilline M. A noter que tous les entérocoques possèdent une PLP propre, spécifiquement les PLP5 de bas poids moléculaires qui montrent une faible affinité pour les bêta-lactamines et responsable de CMI des pénicillines dix à 100 fois supérieures à celles retrouvées pour les autres streptocoques (12).

1.2. Résistance acquise

La résistance de haut niveau aux pénicillines est peu fréquente chez *E. faecalis*, mais plus répandue chez *E. faecium*. Cette résistance acquise repose sur différents mécanismes :

Elle est due soit à une hyperproduction de la PLP 5, de plus faible affinité pour les pénicillines.

Et encore à des mutations qui surgissent au niveau du site actif ou promoteur de la PLP5 chez *E. faecium*, en diminuant l'affinité de cette PLP pour les bêta-lactamines.

Quant à d'autre mécanisme d'apparition plus récente, consiste en la production d'une pénicillinase plasmidique, dont le support est proche du gène blaZ. Lorsqu'il existe, ce gène se trouve fréquemment associé à un haut niveau de résistance à la gentamicine. (12).

2. Aminosides:

2.1. Résistance naturelle

Tous les entérocoques sont naturellement résistants à bas niveau aux aminoglycosides. Cela est dû à une anomalie de transport à travers la membrane bactérienne de l'antibiotique en question. De plus, *Enterococcus faecium* produit naturellement une acétyltransférase chromosomique, AAC, qui inactive la kanamycine, la tobramicine, la nétilmicine et plus

faiblement l'amikacine. La résistance est alors de haut niveau pour ces antibiotiques et aucune synergie n'est possible (12).

2.2.Résistance acquise

Chez *E. faecium*, la résistance à haut niveau aux aminosides est due à un mécanisme enzymatique similaire des enzymes plasmatiques libérées par les staphylocoques et qui contribue au même phénotype de résistance pour les entérocoques, ce dernier révèle la production d'enzymes inactivant les aminosides. Certains de ces enzymes peuvent s'associer entre eux, donnant des profils de résistances complexes. Par ailleurs, certaines altérations de la cible ribosomale ou plus spécifiquement des mutations chromosomiques peuvent conférer à *E. faecalis* une résistance acquise de haut niveau (12).

3. Macrolides, Lincosamides, Streptogramines

3.1.Résistance naturelle

La plus part des entérocoques se caractérise par une résistance intrinsèque aux lincosamides, et au composé A des streptogramines excepté *E. faecium*, *E. durans* et *E. hirae*(12).

3.2.Résistance acquise

La résistance acquise aux MLS est le plus souvent due à 2 mécanismes différents :

- Soit suite à une modification de la cible d'antibiotique et cela est dû à une synthèse de méthylase responsable d'une diméthylation spécifique d'une adénine au niveau de l'ARN 23s du ribosome bactérien. Ceci entraîne un changement de conformation de cet ARN et une baisse de l'affinité des MLS pour le ribosome.
- Soit sous la dépendance de différents gènes comme le gène *mecC* codant pour des protéines impliquées dans l'efflux de ses ATB (9).

4. Glycopeptides

4.1.Résistance naturelle

Elle ne concerne que 3 espèces, rares chez l'homme, qui présentent une résistance de bas niveau à la vancomycine et qui sont *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, et *E. flavescens*, avec une sensibilité préservée à la teicoplanine(13).

4.2.Résistance acquise

Cette résistance concerne essentiellement *E. faecium*, et *E. faecalis*.

Elle découle d'une modification de la cible des glycopeptides, au niveau du précurseur du peptidoglycane, dont le dipeptide terminal habituel D-Ala / D-Ala est remplacé par un autre dipeptide dont l'affinité pour ces antibiotiques est moindre (14).

Elle résulte donc d'un ensemble de phénotypes tels que les Van A , Van B , Van C, Van D , Van E chacun d'eux correspond à un dipeptide terminal précis (13).

5. Céphalosporines

Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines. L'utilisation massive de cette famille d'antibiotique est probablement un des mécanismes expliquant l'émergence actuelle des entérocoques comme pathogènes hospitaliers.

6. Autres antibiotiques

Les données sont contradictoires selon les auteurs, concernant le caractère naturel ou acquis de la résistance au cotrimoxazole, à la fosfomycine et aux quinolones chez les entérocoques. Les entérocoques sont naturellement sensibles au chloramphénicol, aux tétracyclines, à la rifampicine, à la nitrofurantoïne et au linézolide, pour les principales classes utilisées en clinique(15).

Chapitre II :

Matériels et méthodes

1. Type d'étude

Notre étude a été effectuée au cours de la période allant du 02 Avril au 21 Mai 2018., Elle a été conduite au laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès .

2. Lieu d'étude et échantillonnage

Les prélèvements analysés ont été réalisés auparavant depuis le service de restauration hospitalier et stockées à -80°C. 41 souches de *Streptococcus sp* ont été colligées de manière prospective durant les 2 mois d'étude, leur répartition est montrée dans le tableau qui suit :

Tableau 5: Répartition des points de prélèvements

Echantillons	Nombre de points prélevés
Salade	13
Viande rouge crue	6
Viande rouge cuite	5
Pâtisserie	5
Légumes variés cuits	12

3. Analyses bactériologiques

3.1.Mise en culture des entérocoques

Les streptocoques sont des germes exigeants qui ne poussent donc pas sur les milieux de cultures ordinaires, ils nécessitent des milieux enrichis en nutriments.

Ils se comportent en culture comme des aérobies-anaérobies facultatifs, de préférence à une atmosphère riche en CO₂ surtout et à une température optimale située entre 35 et 37 °C.

Après décongélation des souches, une culture sur milieu sélectif s'impose.

- Gélose de Slanetz et Bartley

La gélose de Slanetz et Bartley est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des entérocoques en microbiologie alimentaire dans l'eau et les boissons, par la technique d'isolement sur boîtes de Pétri.

Après 24 heures d'incubation, les colonies suspectes d'Entérocoques sont des colonies rougeâtres.

3.2. Identification des entérocoques

Les tests réalisés dans ce présent travail sont la coloration de gram, test de l'hémolyse, test de bile esculine et le test de catalase.

3.2.1. Coloration de Gram : (Annexe1)

Cette technique a permis d'objectiver la morphologie des entérocoques qui sont des cocci à Gram positif disposées en diplocoques, en chaînette ou isolés, non sporulés et immobiles.

3.2.2. Test de l'hémolyse: (Annexe 2)

○ Principe

Les streptocoques peuvent être classés en fonction de leur capacité à induire une hémolyse sur un milieu de gélose au sang frais.

○ Technique

Il s'agit de l'ensemencement direct de l'échantillon à partir de la culture bactérienne sur une gélose au sang frais de cheval, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.

○ Lecture

Après 18 à 24 heures d'incubation, les colonies sont petites et entourées d'une zone d'hémolyse franche et complète très évocatrice. Deux types d'hémolyse peuvent se produire : alpha (α) et bêta (β) hémolyse.

- Alpha hémolyse présente un changement de couleur dans la gélose d'abord rouge à une couleur vert très foncé. Ceci résulte de l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine par le peroxyde d'hydrogène sécrété par les bactéries.
- Bêta hémolyse se réfère à la lyse complète des cellules sanguines. Elle se présente comme une couleur jaune transparente sur le milieu de gélose au sang frais. Ce type d'hémolyse se produit en raison d'une enzyme produite par une bactérie appelée

Les entérocoques se présentent sous forme de petites colonies translucides entourées d'un halo noir (éventuellement noircissement complet du milieu) et considérer comme positives, déterminant ainsi les entérocoques fécaux.

4. Antibiogramme

○ Principe

L'antibiogramme est l'examen de laboratoire de base visant à déterminer la sensibilité ou la résistance des streptocoques aux différents antibiotiques. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie 2018 (CASFM).

○ Technique

A partir d'une culture pure de 24 h sur milieu Slanetz on prépare une suspension en solution d'enrichissement BHI. On gratte à l'aide d'un l'écouvillon stérile quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis, on les décharge dans 3ml de BHI. On homogénéise la suspension bactérienne et on l'incube à 37°C pendant 3heures. Ensuite des disques imprégnés d'antibiotiques sont déposés à la surface du milieu de culture standardisé qui est le milieu de Mueller-Hinton, préalablement ensemencé par un écouvillon stérile, depuis la suspension bactérienne.

Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque.

○ Lecture

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les disques sont entourés d'une zone d'inhibition (halo clair) dont le diamètre correspond à la CMI de l'antibiotique testé.

Ce dernier est ensuite comparé aux concentrations critiques inférieure et supérieure afin de déterminer les caractères sensible, intermédiaire ou résistant de la bactérie vis-à-vis de cet antibiotique.

Les disques d'antibiotiques testés seront indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : Interprétation de la sensibilité et de la résistance d'une souche vis-à-vis des ATB utilisés (CASFM 2018).

Famille	Sous famille	Sigle	Charge du disque (ug)	Diamètres critiques (mm)	
				S \geq	R <
Tétracyclines	Tétracycline	TE	15	18	15
Glycopeptides	Vancomycine	VA	5	12	12
Bêta-lactamines	Pénicilline G	P	2	10	8
Carbapénème	Ertapénème	ETP	10	21	18
Sulfamide	Triméthoprime	SXT	1	50	21
	Sulfaméthoxazole				
Aminoside	Kanamycine	KA	30	8	8
Fluoroquinolones	Levofloxacin	LEV	5	15	15
MLS	Clarithromycine	CLR	15	23	14

Chapitre III :

Résultats et discussion

1. Répartition des germes en fonction de leur origine

Durant les 2 mois de stage, notre étude a concerné une totalité de 41 échantillons issus d'une cuisine du service hospitalier. Ces échantillons ont concerné différents points de prélèvements dont 13 ont pour origine des salades soit 32%, 12 échantillons provenant de légumes variés cuits soit 29%, 6 à partir de viande rouge crue soit 15% et 5 à partir de viande rouge cuite et la pâtisserie soit 12%.

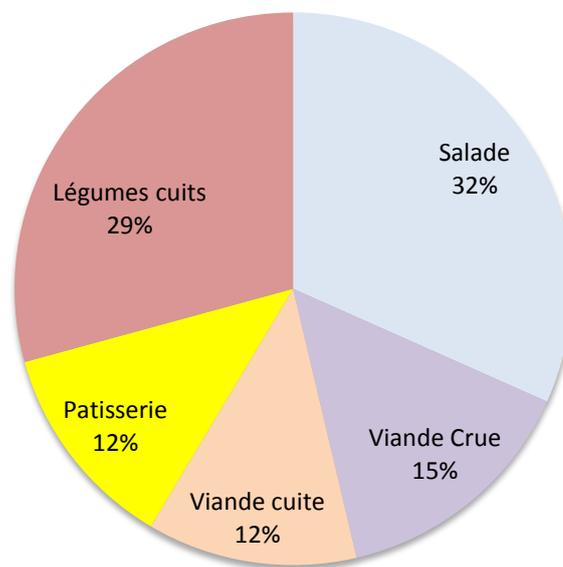


Figure 1 : Répartition des prélèvements selon les origines.

2. Identification des souches

Sur un total de 41 isolats de souches obtenu, l'identification phénotypique de ces isolats ensemencés sur gélose au sang de cheval, a permis de distinguer trois profils d'hémolyse représentés dans la figure 2 :

*12 isolats β hémolytique ;

*8 isolats α hémolytique ;

* 21 non hémolytiques.

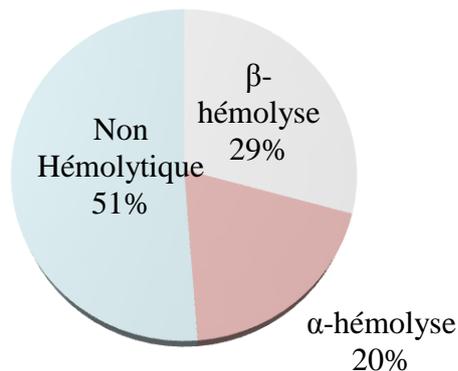


Figure 2 : Identification phénotypique des prélèvements d'après le test d'hémolyse.

Le test de bile esculine a montré une prédominance surtout pour les streptocoques fécaux avec un pourcentage de 88% contre 12 % pour les streptocoques non fécaux. Le résultat est présenté dans la figure 3 ci dessous :

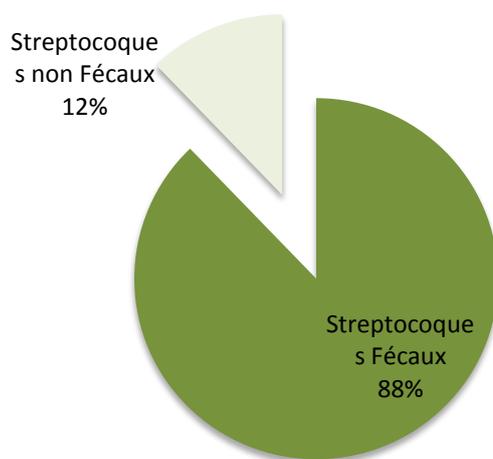


Figure 3 : Répartition des streptocoques d'après le test BEA.

Parmi les sérotypes isolés dans cette étude, *E. faecalis* était le prédominant par rapport au niveau de contamination et la distribution des espèces trouvée dans cette étude qui a atteint un pourcentage de 88 % comme mentionné précédemment et qui est conforme aux rapports récents du Canada et de la Tunisie où *E. faecalis* est le plus souvent identifié(15) . Avec une résistance remarquable pour la tétracycline qui a affecté 25 isolats sur 41 soit 61 %, ce résultat

concorde avec celui retrouvé par l'Université de Florence au sein du département des sciences de la santé, laboratoire de microbiologie appliquée, qui a noté un pourcentage de 60,6 % (16). Ce genre de bactéries est actuellement reconnu comme de véritables indicateurs de souillure fécale, ils ont été retrouvés surtout au niveau des salades et des légumes ce qui nous amène à lier cette contamination aux eaux destinées à l'alimentation humaine mais aussi celles qui sont destinées à l'alimentation animale, à l'arrosage des légumes et des fruits (17).

3. Résistance chez les entérocoques selon l'origine.

Comme le montre la figure 4, nous avons noté que les entérocoques isolés depuis les légumes cuits occupent le premier rang de résistance et représentent environ 59,37 % ensuite les salades avec une fréquence de résistance de 53,85%. La fréquence des entérocoques isolés des viande crue a atteint les 50 %. En général, nous constatons que l'ensemble des souches étaient plutôt résistantes que sensible vis-à-vis des différents types de prélèvements.

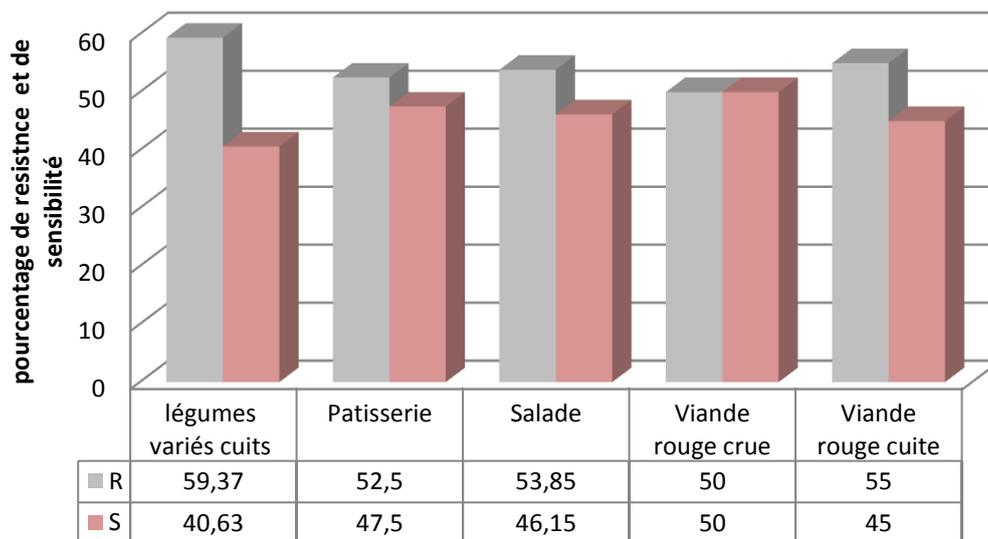


Figure 4 : Résistance selon l'origine des prélèvements.

Une récente étude menée par G. Pesavento et al , 2014 sur la prévalence et la sensibilité aux antibiotiques des entérocoques dans les aliments, a révélé que 33.2 % des souches était résistantes à au moins 3 antibiotiques , et que 41 ,3 % des viande rouges cuites présentaient une résistance , on remarque que ses taux continuent d'accélérer au fil du temps (16).

La consommation de végétaux frais ainsi que cuits est donc une source d'introduction de bactérie résistance dans le tube digestif et c'est ce que confirme les taux de résistance indiqué dans la figure 4. Il s'avère que cette résistance a comporté une gamme étendue d'antibiotiques tels que la kanamycine, la tétracycline, et à la triméthoprimésulfaméthoxazole.

Pour les isolats de viande crue ainsi que cuite, ont montré significativement des taux de résistance assez important à la tétracycline, à la pénicilline G, et à la (TriméthoprimeSulfaméthoxazoleSXT) ce qui suggère que la résistance aux antibiotiques de profil des pathogènes d'origine alimentaire dans les échantillons de viande doit être surveillé régulièrement.

4. Résistance chez les entérocoques selon les classes d'antibiotiques

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée sur 41 isolats bactériens, la figure suivante montre le profil de résistance et de sensibilité des isolats vis-à-vis des 8 antibiotiques utilisés.

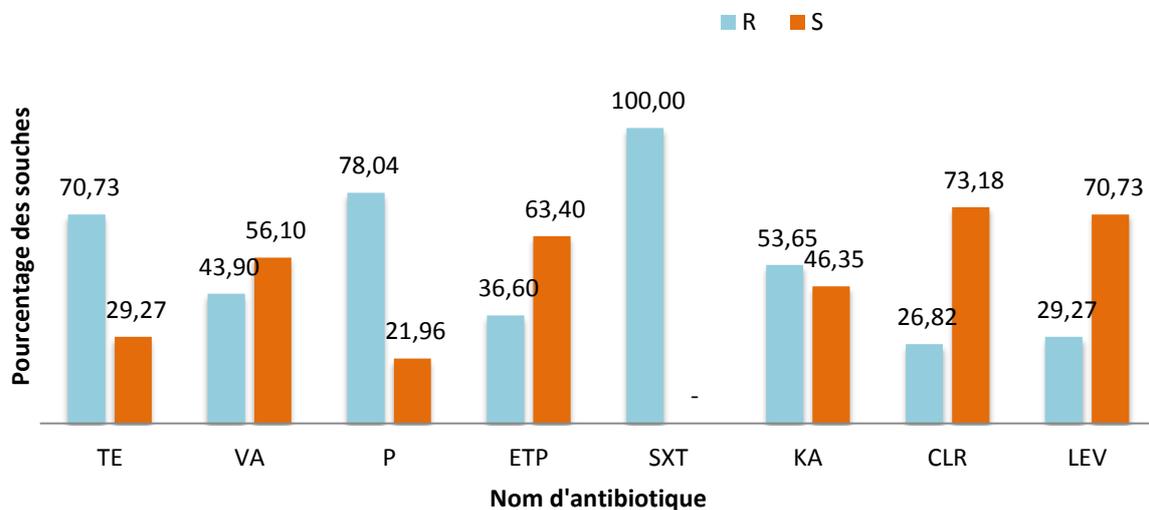


Figure 5 : Profil de résistance et de sensibilité globale vis-à-vis des antibiotiques.

Comme le montre la figure 5, nous avons remarqué que la résistance et la sensibilité bactérienne varient en fonction de la famille d'antibiotiques testées. On enregistre que la famille des sulfamides (TriméthoprimeSulfaméthoxazoleSXT) atteint une résistance élevée (100%). Des études antérieures menées en Turquie en 2015 ont montré que ce pourcentage n'était que de 34.3%(15).

Nous avons noté également une résistance assez élevée pour la Vancomycine (VA) , avec un pourcentage qui correspond à 43,9%. En effet d'après des enquêtes réalisées par différents réseaux (Réussir, Azay-résistance et ColBVH) entre 2000 et 2004, le taux de résistance des entérocoques à la vancomycine était inférieur à 2 % (18). Ce pourcentage est en perpétuel croissance atteignant 3,53% en 2013 (16) . Ceci est référé grâce aux gènes de résistance tels

que les phénotypes de résistance VanA et VanB et qui sont dotés de leur transfert entre les souches (19).

On enregistre aussi que 70,73 % des isolats ont présenté une résistance à la Tétracycline. Ce taux de résistance à la tétracycline est plus élevé en Portugal où 97% des souches étaient résistantes. Ceci peut être dû à l'utilisation massive de cet ATB dans les activités d'élevage (20).

Contrairement aux travaux effectués par Koluman et al, 2009 montrant ainsi que les entérocoques sont considérés comme intrinsèquement résistants au bêta-lactame (Pénicillines) (21). Nous avons noté une résistance très élevée au bêta-lactame (Pénicillines), avec un pourcentage d'environ 79%. Or, les aminosides ont présenté une fréquence de sensibilité assez importante (46,35 %). Cependant, des associations d'antibiotiques actifs sur les parois cellulaires sous forme de pénicilline avec des aminoglycosides à titre d'exemple la kanamycine agissent en synergie et ont été utilisés avec succès comme traitement de l'infection entérocoque(20) .

Les Fluoroquinolones et les MLS gardent une bonne activité qui atteint les 72 % .De tels taux de résistance remettent en question le choix des macrolides comme alternative aux bêta-lactame pour le traitement des angines (18) .

CONCLUSION

Cette étude nous a permis de mettre en évidence l'importance du contrôle microbiologique dans le domaine de restauration.

Dans ce contexte, et suite aux contrôles microbiologiques des 41 prélèvements alimentaires, nous avons noté la présence de fréquence de résistance assez élevée.

A partir des résultats de cette étude, nous pouvons conclure que, dans la plupart des cas, les antibiotiques normalement utilisés dans le traitement des infections aux entérocoques sont les aminoglycosides et accessoirement les glycopeptides et les fluoroquinolones.

En guise de ce travail, nous pouvons conclure que :

- ✓ Les souches isolées ont montré une multi résistance à l'ensemble des antibiotiques testés (TE , SXT , KA , VA , P , ETP)
- ✓ Les fluoroquinolones et les macrolides, lincosamides, streptogramines gardent une bonne activité sur les souches testées.
- ✓ L'étude du comportement des Streptocoques ainsi que leur contamination dans les produits d'alimentation doivent être ajoutés parmi les analyses microbiologiques pour les produits alimentaires.
- ✓ L'alimentation hospitalière destinée aux patients est contaminée par une multitude de germes .

La problématique de l'antibioresistance des bactéries concerne tous les acteurs de la santé humaine et vétérinaire. Une véritable prise de conscience est nécessaire pour réduire la consommation des antibiotiques pour l'homme et l'animal afin de préserver cet arsenal thérapeutique et éviter la diffusion et la transmission des résistances entre l'homme et l'animal.

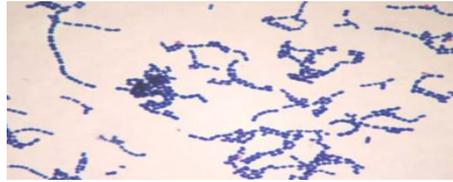
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Franz C.M.A.P. and Holzapfel W.H. Part I Identifying emerging pathogens. Woodhead Publ. 2006;20 (1st edition):577–613.
2. Giraffa G. Enterococci from foods. FEMS Microbiol Rev. 2002;26(2):163–71.
3. Franz CMAP, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH. Enterococci in foods - A conundrum for food safety. Int J Food Microbiol. 2003;88(2–3):105–22.
4. Intérêt S. Thèse de Doctorat en Sciences Option Biotechnologie Bactériocines d'entérocoques isolés de lait cru et beurre de l'Ouest algérien.
5. Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME. Enterococci at the crossroads of food safety? Int J Food Microbiol. 1999;47(1–2):1–24.
6. Chajęcka-Wierzchowska W, Zadernowska A, Łaniewska-Trokenheim Ł. Virulence factors of Enterococcus spp. presented in food. LWT - Food Sci Technol. 2017;75:670–6.
7. Méga Mémo IFSI Tout le programme semestre par semestre de l'étudiant infirmier. 2013.
8. Caruba T, Jaccoulet E. Pharmacologie et thérapeutiques [Internet]. Pharmacologie et thérapeutiques. 2015. 81-94 p.
9. Muylaert A, Mainil JG. Résistances bactériennes aux antibiotiques : Les mécanismes et leur « contagiosité ». Ann Med Vet. 2012;156(2):109–23.
10. a L, C R. RESISTANCE BACTERIENNE AUX Infections soins LOZNIIEWSKI A ., RABAUD C ., Nancy. 2010;1–4.
11. Roy PH. Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique. 1997;
12. Quincampoix JC, Mainardi JL. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. 2001;
13. Moubareck C. Transfert de la résistance à la vancomycine entre entérocoques d'origine animale et humaine. 2005;125–32.
14. Leclercq R. La résistance des entérocoques aux glycopeptides*. 1997;943–5.
15. Yilmaz EŞ, Aslantaş Ö, Önen SP, Türkyilmaz S, Kürekci C. Prevalence, antimicrobial resistance and virulence traits in enterococci from food of animal origin in Turkey. LWT - Food Sci Technol. 2016;66:20–6.
16. Pesavento G, Calónico C, Ducci B, Magnanini A, Lo Nostro A. Prevalence and antibiotic resistance of Enterococcus spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat. Food Microbiol [Internet]. 2014;41:1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2014.01.008>
17. Eau EN, Traitée DEMER. Capacité de survie des streptocoques fécaux en eau de mer traitée. 1967;31(1).
18. Vachée A, Varon E, Jouy E, Meunier D. Sensibilité aux antibiotiques chez les streptocoques (hors pneumocoque) et les entérocoques : données Onerba. Pathol Biol. 2009;57(3):240–4.
19. Haenni M, Saras E. in French Cattle. Foodborne Pathog Dis. 2009;6(9).
20. Barbosa J, Ferreira V, Teixeira P. Antibiotic susceptibility of enterococci isolated from traditional fermented meat products. Food Microbiol [Internet]. 2009;26(5):527–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.03.005>
24. Courvalin, P. 2006. AntibioGramme.
25. Denton, M. 2007. Enterobacteriaceae. int J Antimicrob Agents 29:9-2)

ANNEXES

Identification bactériologique :

- ❖ **Annexe 1:** Coloration de Gram :



Vue microscopique de cocci à Gram positif

- ❖ **Annexe 2 :** Couleur de l'hémolyse :



Bêta hémolyse : couleur claire, hémolyse totale.

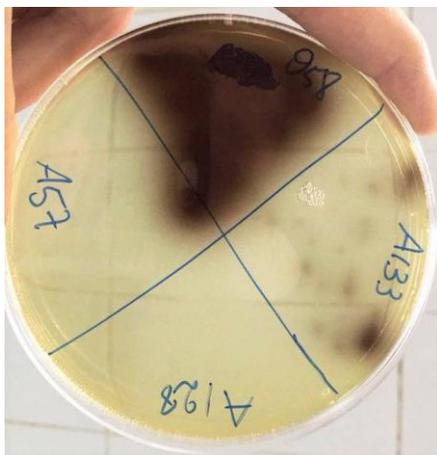


O 43 : Alpha hémolyse

O 58 , O44 : Absence d'hémolyse

Identification biochimique et lecture des résultats

- ❖ **Annexe 3 :** Test catalase
- ❖ **Annexe 4 :** Test de bile esculine



A133 , O58 Test esculinase +
A 57 , A128 Test esculinase-

❖ **Annexe 5: Composition et contrôles qualité des milieux de cultures.**

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

1. LE MILIEU BEA (Bile Esculine Agar)

Composant	Quantité (g/l)	Rôle
Extrait de viande	3	Apport de facteurs de croissance
Peptone	17	Source d'azote, de C et d'énergie
Extrait de levure	5	Apport de facteurs de croissance
Citrate de sodium	1	Source de C
Citrate de fer	0.5	Agent révélateur : apport de fer III
Chlorure de sodium	5	Milieu isotonique
Esculine	1	Dérivé glucidique, hydrolysé en glucose et en esculétine
ile de bœuf	10	Empêche la croissance des bactéries à Gram positif.
Azide de sodium	0.25	Inhibiteur des bactéries contaminantes à Gram négatif
Agar	13	Gélifiant

2. MILIEU SLANETZ

Composant	Quantité (g/l)	Rôle
Tryptose	20	Apport d'acides aminés
Extrait de levure	5	Apport de facteurs de croissance
Phosphate dipotassique	2	Tampon
Azide de sodium	4	Inhibiteur de la croissance des microorganismes à Gram négatif
Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium	0.1	Indicateur de la croissance bactérienne
Agar	10	Gélifiant

3. LE MILIEU BRAIN HEART INFUSION

Composant	Quantité (g/l)	Rôle
Extrait cœur-cerveille	17.5	Apport de protéines d'azote organique, de carbone, de
Peptone	10	

		vitamines et d'oligo-éléments.
Chlorure de sodium	5	Agent de différenciation
Phosphate disodique	2.5	Tampon
Glucose	2	Source d'hydrate de carbone
Agar	15	Gélifiant

4. GELOSE AU SANG

Composant	Quantité (g/l)	Rôle
Peptone	15	Source de Carbone, d'azote, et d'énergie, et d'acide aminés
Amidon	1	Source de Carbone et d'énergie
Chlorure de sodium	5	Agent de différenciation
Extrait de levure	5	Apport de facteurs de croissance
Sang de cheval	10%	Apport de substances organiques complexes
Agar	12	Gélifiant

5. MULLER HINTON

Composition	Quantité (g/l)	Rôle
Peptone	17.5	Source d'azote, de C et d'énergie
Extrait de viande	2	Apport de facteurs de croissance
Amidon	1.5	Source de Carbone et d'énergie
Agar	17	Gélifiant