



Institut des
Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme

MASTER

En Sciences Vétérinaires

**PROPRIETES ANTIBACTERIENNES D'UN SYMBIOTIQUE ENVERS
LES ENTEROCOQUES ET L'EFFET DE SON ASSOCIATION AVEC
LES ANTIBIOTIQUES : ETUDE IN VITRO**

Présenté par

ADDA Djamel Abdelmoumene et ZERIF Bochra

Devant le jury :

Président :	OUCHENE, N	Professeur	ISV Blida
Examineur :	BOUGUessa, A	MAA	ISV Blida
Promotrice :	YOUSFI, S	MCB	ISV Blida
Co-promoteur :	HAMMAMI, N	MCA	ISV Blida

Année : 2020/2021

Remerciements

Louange à dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé, le temps et la patience pour pouvoir finaliser ce travail.

Nos sincères remerciements et gratitude s'adressent spécialement à Madame YOUSFI Safia, pour nous avoir proposé ce sujet, pour son encadrement, pour le temps qu'elle a consacré à la correction et à la relecture de ce document, pour son suivi et ses conseils précieux permettant d'aboutir à la production de ce mémoire.

Et tenons à remercier notre Co-promoteur madame HAMMAMI. N, de nous avoir encadré avec sa cordialité franche et coutumière, on la remercie pour sa gentillesse.

Veillez accepter Mes dames, Nos plus vifs remerciements.

Nos remerciements seront également adressés aux membres de jury, le président Le Professeur OUCHENE. N et l'examinatrice Madame BOUGUESSA. A, pour nous avoir fait l'honneur de juger ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profond respect.

En fin, nous voudrions remercier toutes les personnes ayant contribué à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.

Dédicaces

J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail de fin d'étude à ceux que j'aime le plus au monde, mes très chers parents, mon père et ma mère qui m'ont apporté leur soutien, leur encouragement avec beaucoup d'amour durant toutes les années d'étude.

Que dieu leurs prête santé.

A ma chère grande mère LAKEHAL RABHA et mon grand-père ZERIF ABDELKADER En témoignage de mes sentiments les meilleurs, qui m'ont apporté leur aide durant toutes les années d'étude.

Que dieu les protège pour moi.

A ma grande mère AOUAMEURE LALOUCHA paix à son âme.

A mon grand-père LAKEHAL LAKHEDAR paix a son âme.

A mes chères sœurs SAMAH, HADIL.

A mes chers frères MONCIF, WASSIM.

Je vous aime beaucoup.

A toute ma famille mes oncles paternelles et maternelles, mes cousins, mes cousines.

A ma promotrice Dr YOUSFI SAFIA qui m'a guidé à fin de réaliser ce travail.

A ma Co-promotrice Dr HAMMAMI N

A mes chères amies

HADJIRA, HIBA, NARIMEN, KHITEM, LILYA, RAHIL, KHAWLA, ROMAÏSSA, MANEL, RAHMA, ABIR, CHAIMA, BESSMA, SABRINE, SARAH, RIYAD, CHAHINE, KHIRO, HOUSSEM.

A mes chers confrères

SERINE, HANAA, LYCIA, LINDA, MOUNIA, RACHIDA, SOUMIA, NASSIMA, LES 2 KATIA, LES 2 OUSSAMA, AYMEN, SAOUDI.

A mon binôme ADDA DJAMEL.

A toute la promotion 2020/2021.

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études

A mes chères sœurs Amina et Fatima et ma cousine Samia pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral

A mon cher frère Amine

A mes grands parents que dieu prolonge leur vie

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire

A mes chères amis(e) Amira , Hanaa, Youcef ,Walid , Mourad, Sabrine, Ouzna, Tounes, Maha, Ibtissem , Mohamed Amine, Abir, Lycia, Nassim , Mounia, Serin, Ilyas et les autres.

A mon binôme ZERIF BOCHRA

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible

Merci d'être toujours là pour moi.

Résumé

Des études cliniques ont déjà démontré l'efficacité d'un symbiotique (SYMBIOVEBA) dans le traitement de mammites subcliniques chez la vache laitière, en Algérie.

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antibactérienne de ce symbiotique, ainsi que l'effet de son association avec les antibiotiques, vis-à-vis des souches d'entérocoques multirésistants, *in vitro*.

Les résultats de notre étude ont révélé un effet antibactérien du symbiotique vis-à-vis des deux souches testées par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

L'étude de l'activité antibactérienne du symbiotique en association avec la pénicilline a témoigné un effet indifférent sur *E.faecalis* et un effet additif sur *E.faecium*.

Mots clés : Antibiorésistance, Activité antibactérienne, *Enterococcus spp*, SYMBIOVEBA.

ملخص

أثبتت الدراسات السريرية فعالية عقار سيمبيوفيب في علاج التهاب الضرع تحت الإكلينيكي في أبقار الألبان (SYMBIOVEBA) في الجزائر

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذا التكافلي ، وكذلك تأثير ارتباطه بالمضادات الحيوية ، ضد السلالات متعددة المقاومة للمكورات المعوية ، في المختبر

كشفت نتائج دراستنا عن تأثير مضاد للجراثيم للتكافل فيما يتعلق بالسلالتين المختبرتين بطريقة الانتشار على وسط أجار

أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمضادات الحيوية بالاشتراك مع البنسلين تأثيرًا غير مبالٍ على بكتري *E. faecalis* وتأثيرًا إضافيًا على بكتيريا *E. faecium*

الكلمات المفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية ، النشاط المضاد للبكتيريا ، المكورات المعوية ، سيمبيوفيبا

Abstract

Clinical studies have already demonstrated the efficacy of a symbiotic (SYMBIOVEBA) in the treatment of subclinical mastitis in dairy cows in Algeria.

The objective of this work is to evaluate the antibacterial activity of this symbiotic, as well as the effect of its association with antibiotics, against multi-resistant enterococci strains, in vitro.

The results of our study revealed an antibacterial effect of the symbiotic against the two strains tested by the diffusion method on agar medium.

The study of the antibacterial activity of the symbiotic in association with penicillin showed an indifferent effect on *E. faecalis* and an additive effect on *E. faecium*.

Key words: Antibiotic resistance, Antibacterial activity, *Enterococcus* spp, SYMBIOVEBA.

Liste des figures

	Titre des figures	Page
Figure 1 :	Structure de la paroi des bactéries Gram négatif.	5
Figure 2 :	Structure de la paroi des bactéries Gram positif.	6
Figure 3 :	Représentation schématique des principaux mécanismes d'action des probiotiques.	15
Figure 4 :	Mécanismes d'action et principaux effets associés à la consommation de prébiotiques.	17
Figure 5 :	SYMBIOVEBA.	20
Figure 6 :	Illustration de la méthode d'aromatogramme.	21
Figure 7 :	Zone d'inhibition induite par SYMBIOVEBA sur une souche d'entérocoque multirésistante.	24
Figure 8 :	Effet indifférent de l'association ATB/Symbiotique vis-à-vis de <i>E.faecalis</i> .	26
Figure 9 :	Effet additif de l'association ATB/Symbiotique vis-à-vis de <i>E.faecium</i> .	26

Liste des tableaux

	Titre du tableau	Page
Tableau 1 :	Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.	8
Tableau 2 :	Principaux effets bénéfiques associés à la prise de probiotiques et mécanismes supposés.	12/13
Tableau 3 :	Principaux mécanismes d'action des probiotiques.	14
Tableau 4 :	Caractéristiques et origine des souches bactériennes cibles.	20
Tableau 5 :	Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par SYMBIOVEBA.	24
Tableau 6 :	Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par l'association ATB/SYMBIOVEBA.	27

Liste des abréviations

ADN	: Acide désoxyribonucléique.
AFSSA	: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
ARN	: Acide ribonucléique.
ATB	: Antibiotique.
E	: <i>Enterococcus</i> .
h	: Heure.
IPA	: Institut Pasteur d'Alger.
pH	: Potentiel Hydrogène.
MDR	: Multiple-Drug-Resistance.
ml	: Millilitre.
MLS	: Macrolides Lincosamides Streptogramines.
mm	: Millimètre.
PEN	: Pénicilline.
UI	: Unité Internationale.
μl	: Microlitre.
∅	: Diamètre.
°C	: Degré Celsius.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Définition de la résistance.....2

2. Types de résistance.....2

3. Types de mécanismes de résistance.....3

4. Entérocoques : microorganismes indicateurs de résistance aux antibiotiques.....9

Chapitre 2 : Rappels sur les symbiotiques

1. Les probiotiques.....10

2. Les prébiotiques.....15

3. Effet des prébiotiques sur les probiotiques : Concept symbiotique.....17

Partie expérimentale

1. Problématique.....19

2. Objectifs.....19

3. Matériel19

4. Méthodes.....21

5. Résultats et discussion.....24

Conclusion.....28

Références bibliographiques.....29

Introduction

Introduction

Le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) augmente régulièrement et constitue un véritable problème de santé publique. Les bactéries développent, de plus en plus, de la résistance en s'adaptant aux thérapeutiques antibactériennes et de ce fait l'échec de traitement.

Il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et de revenir à des solutions alternatives, telles que les probiotiques, prébiotique et symbiotiques.

Des études récentes ont montré que les symbiotiques présentent un important potentiel en tant qu'agents antimicrobiens (Abdennebi *et al.*, 2020 ; Lamari *et al.*, 2021).

De ce fait, l'objectif de notre étude est d'évaluer in vitro l'activité antibactérienne d'un symbiotique « SYMBIOVEBA » contre deux souches d'entérocoques multirésistantes ; et la rechercher d'un éventuel effet de synergie avec les antibiotiques auxquelles les souches sont résistantes.

Ce manuscrit est subdivisé en deux parties. La première est consacrée à une étude bibliographique. Elle décrit dans un premier temps la résistance bactérienne aux antibiotiques. Par la suite, les notions de probiotiques, prébiotiques et symbiotiques sont détaillées afin de mettre en exergue leurs effets bénéfiques sur la santé, et par conséquent, une éventuelle alternative aux antibiotiques.

La seconde partie du manuscrit est consacrée à une étude expérimentale, dont l'objectif était la mise en évidence de l'activité antibactérienne du symbiotique par la méthode des disques vis-à-vis de : *E. faecalis* et *E. faecium* multirésistants; et l'étude de l'effet de l'association Symbiotique/Antibiotiques sur les mêmes souches.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1:

Résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Définition de la résistance :

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. En outre, il est important de signaler, qu'en conditions *in vivo*, la capacité de résistance ou de sensibilité de la souche à la thérapie antimicrobienne mise en place sera dépendante de différents paramètres, tels que la localisation de la bactérie, le dosage et le mode d'administration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire de l'individu traité. Et nombreuses sont les situations où le composé ne pourra pénétrer ou agir au niveau du site infectieux, créant de la sorte un état de résistance clinique : citons pour exemples les abcès fibrotiques ou les conditions de pH ou de pression partielle en oxygène trop faibles (Guardabassi et Courvalin, 2006).

2. Types de résistance :

Il existe deux types de résistance bactérienne :

2.1. Résistance naturelle :

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes).

Cette résistance naturelle confère une certaine tolérance, voir une insensibilité totale vis-à-vis d'une molécule particulière ou vis-à-vis d'une classe d'antimicrobiens.

Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées afin de déterminer l'activité d'un antibiotique et contribue à définir son spectre antibactérien (Aboya, 2013), (Henriques et Normar, 2002).

2.2. Resistance acquise :

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Ce facteur génétique peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (Aboya, 2013).

On décrit deux phénomènes majeurs à la base de l'acquisition de résistance par modification du génome bactérien, à savoir, les mutations responsable des résistances endogène, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistance exogènes.

3. Types de mécanismes de résistance :

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (Guardabassi et Courvalin, 2006).

3.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion.

Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules.

3.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique :

La cible de l'antibiotique peut être 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. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les Sulfamidés, les Diaminopyrimidines (triméthoprimine) et les Bêta-lactames (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

3.3. Pompes à efflux :

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux sur base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour specific-drug-resistance), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme

pompes MDR (pour multiple-drug-resistance) (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

3.4. Perméabilité réduite :

Contrairement aux bactéries 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 Gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable. Les figures 1 et 2 présentent la structure des bactéries Gram négatif et Gram positif.

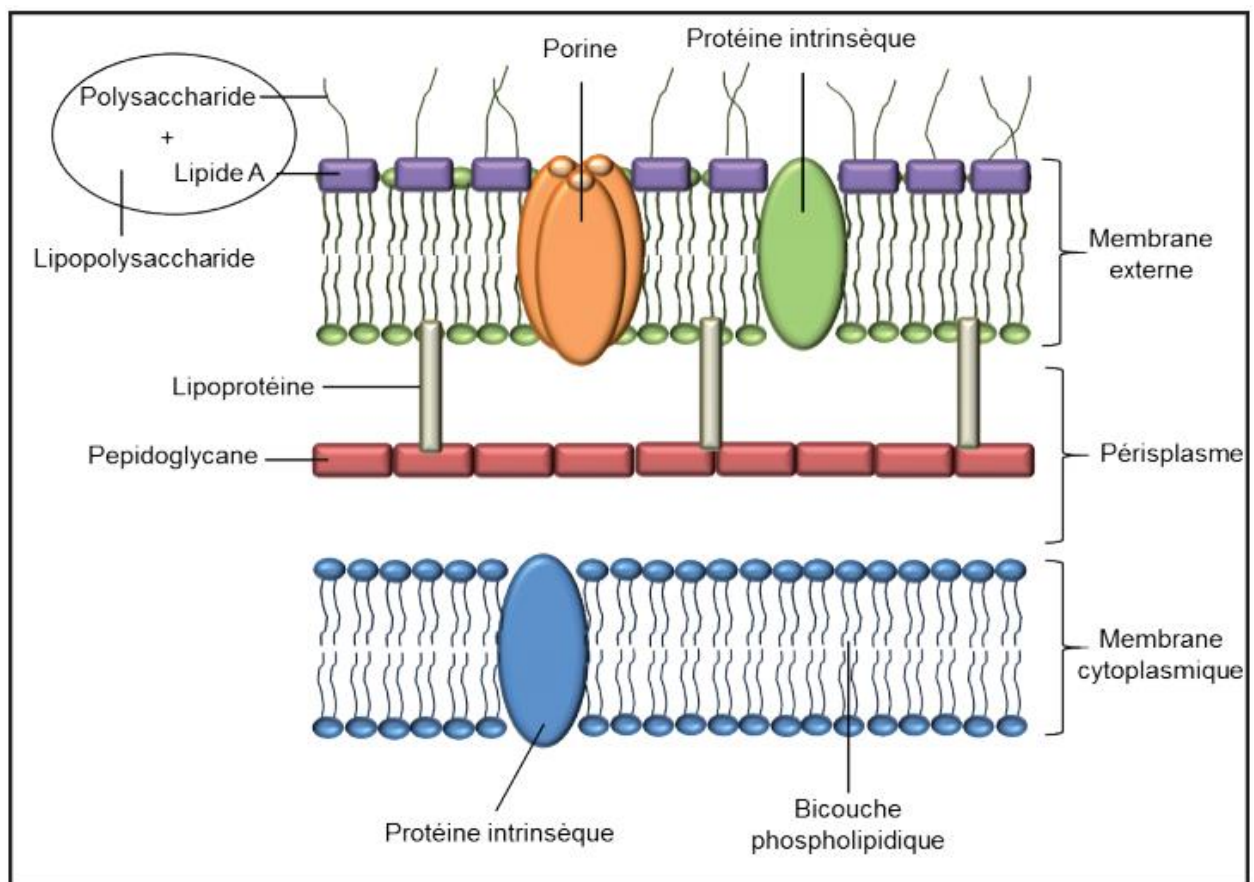


Figure 1 : Structure de la paroi des bactéries Gram négatif (adapté de Muylaert et Mainil, 2012).

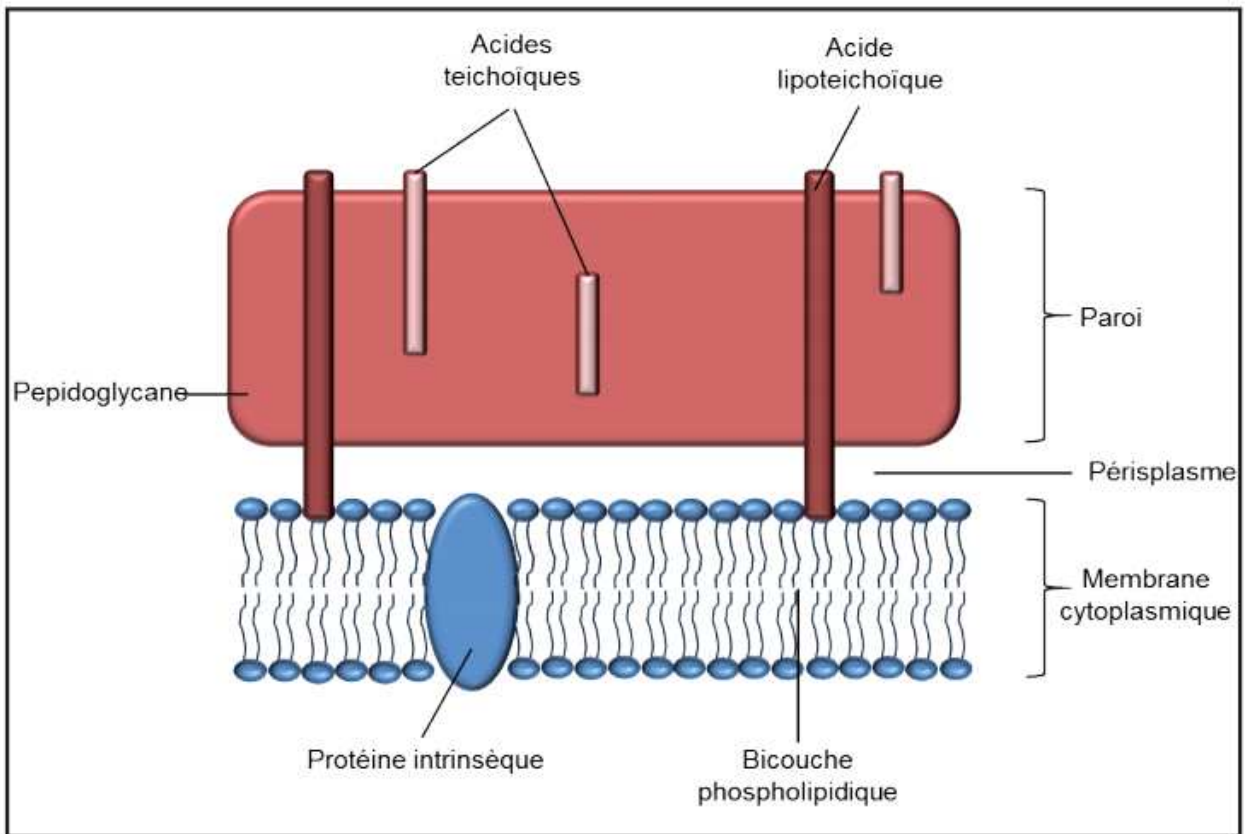


Figure 2 : Structure de la paroi des bactéries Gram positif (adapté de Muylaert et Mainil, 2012).

Ainsi, au sein des bactéries Gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. La membrane externe de certaines bactéries telles que *P. aeruginosa* est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de sensibilité aux antimicrobiens. En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveau de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques.

La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries Gram négatif et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les *Enterobacteriaceae*, étant donné le large spectre d'antibiotiques qu'elle cible.

En outre, on décrit également ce type de phénomène pour expliquer la résistance aux aminoglycosides parmi les germes anaérobies ainsi que le faible niveau de sensibilité clinique (résistance intrinsèque à bas niveau) observé vis-à-vis de cette famille de composés parmi les bactéries anaérobies facultatives telles que les entérocoques et les streptocoques. En effet, cette famille d'antibiotiques pénètre à l'intérieur des cellules bactériennes via un mécanisme de

transport dépendant d'un métabolisme aérobie (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

3.5. Protection de la cible de l'antibiotique :

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome. Depuis quelques années, des souches présentant des résistances sub-cliniques dites à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées. Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques qnr (pour quinolone resistance) dont 5 groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries Gram négatives à travers le monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries Gram positives (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2008). Les protéines qnr en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (Robiczek *et al.*, 2006 ; Cavaco *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2009).

3.6. Piégeage de l'antibiotique :

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et dutriméthoprimine ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (Guardabassi et Courvalin, 2006).

Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 1 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Facklam *et al.*, 2002), (Simjee *et al.*, 2006), (Wax *et al.*, 2008), (Eliopoulos, 2008).

Type de mécanisme de résistance	Mécanisme de résistance spécifique	Classe d'antibiotique (Antibiotique)
Inactivation de l'antibiotique	Dégradation enzymatique (Bêtalactamases)	Bêtalactamines
	Modification enzymatique (Phosphotransférase, adényltrasférase, acétyltrasférase)	Aminoglycosides
	Dégradation enzymatique (CAT)	Phénicoles
	Dégradation enzymatique (Acétyltrasférase)	Streptogramines A
	Dégradation enzymatique (Nitrofurane réductase)	Nitrofuranes
Reflux actif et imperméabilité à l'antibiotique	Pompe à efflux par transporteur membranaire	Tétracyclines
	Pompe à efflux par transporteur membranaire	Macrolides
	Pompe à efflux par transporteur membranaire	Quinolones
	Diminution de la perméabilité cellulaire	Polymyxines
	Pompe à efflux par transporteur membranaire	Polypeptides
	Changement de la perméabilité de la membrane externe	Aminoglycosides
	Pompe à efflux par transporteur membranaire	Phénicoles
Modification de la cible de l'antibiotique	Méthylation site actif du ribosome	Macrolides, Lincosamides, Streptogramine B
	Modification de la cible (Nucléotidyltrasférase)	Lincosamides
	Méthylation du ribosome	Orthosomycine
	Mutation ou recombinaison des gènes codant pour DHPS	Sulfamides
	Mutation ou recombinaison des gènes codant pour DHFR	Triméthoprimes
	Mutation des gènes codant pour ADNgyrase et topoisomérase IV	Quinolones
	Modification du complexe D-Ala- D-Ala	Glycopeptides
	Modification de la cible PBP et surproduction	Bêtalactamines
	Protection et modification de la cible ribosomale	Tétracyclines
Résistance de la cible	Surproduction de la cible (DHFR)	Triméthoprimes
	Surproduction de la cible dans le peptidoglycane	Glycopeptides
	Surproduction de la cible (Undecaprenol monophosphate) par l'enzyme undecaprenol kinase	Polypeptides (Bacitracine)

CAT : Chloramphénicol acétyltrasférase; DHPS : Dihydroptéroate synthase; DHFR : Dihydrofolate réductase; PBP : Penicillin-binding protein.

4. Entérocoques : microorganismes indicateurs de résistance aux antibiotiques :

Les espèces *E.faecalis* et *E.faecium* (sont des entérocoques : des coques à métabolisme aéro-anaérobie, dites cocci à Gram positif) ont le potentiel de se disséminer facilement à travers la chaîne alimentaire, de contaminer l'eau et l'environnement (Vanden et Stobberingh, 2000). Ils sont habituellement retrouvés en très grand nombre dans les aliments d'origine animale tels que les carcasses de bœuf, de porc et de volaille indiquant ainsi une contamination fécale (Franz *et al.* 1999), (Giraffa, 2002). De plus, ils possèdent une très grande capacité d'acquisition et de transfert de la résistance aux antibiotiques (Teixeira et Facklam, 2003). Toutes ces caractéristiques expliquent leur suivi dans les programmes de surveillance de l'antibiorésistance en tant qu'indicateurs de résistance aux antibiotiques pour les bactéries à Gram positif.

Chapitre 2:

Rappels sur les symbiotiques

1. Les probiotiques :

1.1. Définition :

Le terme « probiotique » vient du Grec qui signifie « pour la vie », choisi par opposition au terme antibiotique.

Dans les années 1950-1960, de nombreux produits « probiotiques » ont été développés, mais l'absence de données rigoureuses sur l'effet clinique a conduit à leur disparition progressive, à l'exception de quelques-uns dont les effets ont été confirmés. Jusqu'en 2002, de nombreuses définitions du terme « probiotique » vont se succéder, soulignant les effets bénéfiques sur le microbiote intestinal, si les quantités ingérées sont optimales. Contrairement aux hypothèses initialement proposées, les effets bénéfiques associés à leur consommation ne nécessitent pas nécessairement une modification de la flore intestinale, notamment les effets immunomodulateurs (Rambaud *et al.*, 2004).

En 2002, la « Food and Agriculture Organization of the United Nations » et la « World Health Organization » (FAO / WHO) proposent une définition officielle du terme « probiotiques » : « Organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité adéquate, peuvent exercer des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte » (FAO/WHO 2002).

1.2. Critères de sélection d'un probiotique :

Au-delà du fait qu'une souche probiotique doit être identifiée par le séquençage de l'ARN 16S, certaines de ses propriétés physiologiques essentielles sont à prendre en considération pour s'assurer de son efficacité et du respect des règles de sécurité liées à son utilisation (d'après l'Organisation Mondiale de Gastroentérologie, 2008) :

- Innocuité de la souche : elle doit respecter le statut « GRAS » pour « Generally Recognized As Safe ». Elle ne doit pas être pathogène, mutagène ou carcinogène, et ne doit pas être résistante à certains antibiotiques,
- Tolérance aux conditions du tractus gastro-intestinal : pour assurer ses fonctions optimales, après ingestion, le probiotique doit supporter l'action de deux barrières biologiques principales que sont l'acidité gastrique et la bile sécrétée dans le duodénum,
- Adhésion à la muqueuse intestinale : l'adhésion va permettre au probiotique d'augmenter son temps de séjour dans le tractus et ainsi d'être plus intimement en contact avec les cellules intestinales,

- Capacité de croissance et activité biologique dans l'intestin : la multiplication de la souche dans l'intestin va permettre d'augmenter la taille de la population. Cela aura pour conséquence d'augmenter la concentration des produits métaboliques, et d'améliorer ses effets,
- Compatibilité avec les technologies alimentaires : la souche doit présenter une bonne stabilité technologique, notamment lors de la préparation du probiotique,
- La souche doit produire des effets bénéfiques sur la santé.

1.3. Effets des probiotiques sur la santé :

Les effets bénéfiques des probiotiques sur la santé de l'hôte sont, en théorie nombreux, mais les preuves scientifiques confirmant ces allégations nécessitent des investigations supplémentaires. Les principaux effets avérés ont été établis à la suite d'études cliniques réalisées en double aveugle.

D'autres sont seulement supposés, étant donné qu'ils reposent sur la base d'essais in vitro qui nécessitent des transpositions au niveau in vivo pour être validés.

La composition des communautés microbiennes indigènes du tractus intestinal est très complexe, et elle est spécifique de l'hôte et de son environnement. Il est actuellement difficile d'attribuer de manière spécifique un effet bénéfique à une espèce donnée de microorganisme.

L'évaluation des effets d'une souche probiotique a permis à la communauté scientifique de mieux comprendre le rôle propre à certaines bactéries présentes dans l'intestin. Cependant, les effets synergiques de différentes souches associées et les mécanismes impliqués restent encore très mal connus.

Les principaux effets bénéfiques des probiotiques et les mécanismes associés sont présentés dans le Tableau 2 (résumé par Nagpal et al. 2012).

Tableau 2: Principaux effets bénéfiques associés à la prise de probiotiques et mécanismes supposés d'après NAGPAL *et al.*, (2012).

Effets sur la santé	Mécanismes supposés
Protection contre les pathogènes entériques	<ul style="list-style-type: none"> • Activité antagoniste (compétition pour les nutriments et les récepteurs, • production de composés antimicrobiens) • Stimulation du système immunitaire systémique • Effet adjuvant augmentant la production d'anticorps • Résistance à la colonisation et diminution de l'accès aux pathogènes • (modification du pH, production de bactériocines/défensines, de peptides anti-microbiens et de métabolites toxiques)
Aide à la digestion du lactose	<ul style="list-style-type: none"> • Les lactases bactériennes permettent le clivage du lactose en glucose et galactose assimilables
Prolifération bactérienne dans l'intestin	<ul style="list-style-type: none"> • Les Lactobacilli influencent l'activité proliférative en diminuant la production de métabolites toxiques
Effet anticancéreux	<ul style="list-style-type: none"> • Activité antimutagène, • Détoxification de métabolites carcinogènes • Altération de l'activité enzymatique pro-cancéreuse de microorganismes du • côlon • Stimulation des fonctions immunitaires • Influence sur la concentration en sels biliaires • Neutralisation de carcinogènes alimentaires
Augmentation de la détoxification / excrétion de métabolites microbiens toxiques	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation du nombre de bifidobactéries et changement métabolique • d'une communauté bactérienne utilisant les glucides au détriment des • protéines, limitant la production de métabolites toxiques et putréfactifs • Diminution des symptômes de l'encéphalopathie hépatique après l'administration de Bifidobactéries et de lactulose
Lutte contre l'hypercholestérolémie	<ul style="list-style-type: none"> • Assimilation du cholestérol par les enzymes bactériennes • Diminution de l'activité des hydrolases de sels biliaires • Effet antioxydant

Suite du tableau 2

Effets sur la santé	Mécanismes supposés
Lutte contre l'hypertension	<ul style="list-style-type: none"> • L'action de peptidases bactériennes sur les protéines du lait engendre des tripeptides anti-hypertensifs • Des composants de l'enveloppe bactérienne agissent comme inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
Lutte contre les infections à <i>Helicobacter pylori</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition compétitive pour les sites de colonisation
Encéphalopathie hépatique	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition compétitive de la flore productrice d'urée
Amélioration des rendements nutritionnels	<ul style="list-style-type: none"> • Production de vitamines et absorption de minéraux
Modulation du système immunitaire	<ul style="list-style-type: none"> • Renforcement de l'immunité spécifique et non-spécifique contre les infections et tumeurs par l'immunomodulation des tissus lymphoïdes associés au tractus • Effet adjuvant dans les réponses immunitaire spécifiques à un antigène • Modulation de l'activité des macrophages et lymphocytes • Stimulation de la production de cytokines pro- et anti-inflammatoires • Augmentation de la production d'anticorps
Lutte contre les allergies	<ul style="list-style-type: none"> • Prévention de la translocation des antigènes dans la circulation sanguine • Prévention des réponses immunologiques excessives dues à l'augmentation de la stimulation antigénique de l'intestin
Lutte contre les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires lors de maladies de Crohn • Maintien de la rémission des symptômes lors de colites ulcéreuses et de pouchites • Réduction des symptômes lors d'un syndrome de l'intestin irritable

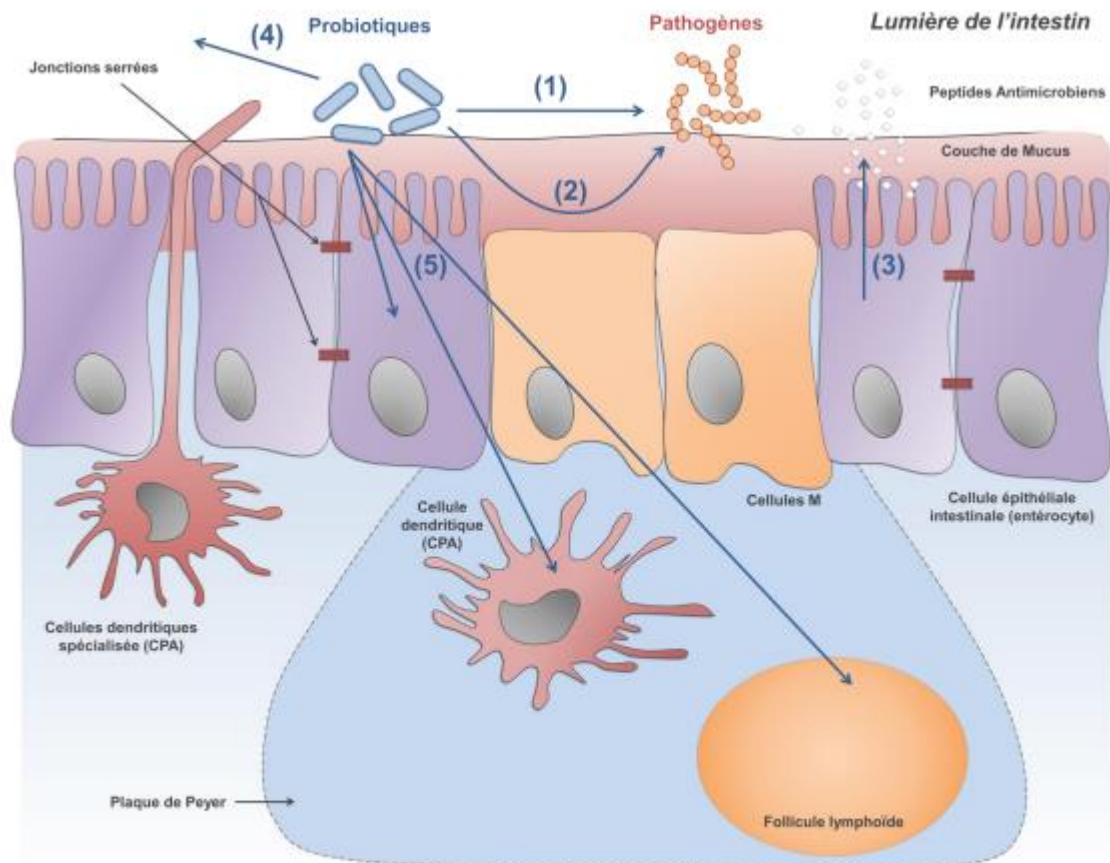
1.4. Mécanismes d'action des probiotiques :

Nous avons vu que les bactéries probiotiques pouvaient avoir de multiples et divers effets sur l'organisme de l'hôte. Différents microorganismes peuvent influencer l'environnement luminal intestinal, les fonctions de barrière de l'épithélium et de la muqueuse, ainsi que le système immunitaire associé. Les probiotiques peuvent exercer leurs effets sur différents types cellulaires impliqués dans les réponses immunitaires innée et adaptative, comme les cellules épithéliales, les cellules dendritiques, les monocytes/macrophages, les lymphocytes B, les

lymphocytes T (incluant les cellules T régulatrices), et les cellules NK. Le Tableau 3 présente de manière simplifiée les principaux mécanismes d'action des probiotiques. Ces mécanismes sont illustrés sous forme de schéma figure 3.

Tableau 3 : Principaux mécanismes d'action des probiotiques d'après Ng *et al.*, (2009).

Mécanismes d'action des probiotiques
<p>Activité antimicrobienne</p> <ul style="list-style-type: none"> - Diminution du pH luminal par la production de métabolites acides - Sécrétion de peptides antimicrobiens - Inhibition de l'invasion bactérienne par compétition pour les nutriments - Inhibition de l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales par compétition pour les récepteurs
<p>Augmentation des fonctions de barrières</p> <ul style="list-style-type: none"> - Stimulation de la production de mucus - Augmentation de l'intégrité de la barrière intestinale (jonctions serrées)
<p>Immunomodulation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Effets sur les cellules épithéliales intestinales - Effets sur les cellules dendritiques - Effets sur les monocytes/macrophages - Effets sur les lymphocytes <ul style="list-style-type: none"> ✓ Lymphocytes B ✓ Lymphocytes T ✓ Cellules NK



- (1) Activité antimicrobienne directe (sécrétion de bactériocines/défensines)
- (2) Inhibition des pathogènes par compétition pour les nutriments et les sites d'adhésion à la muqueuse
- (3) Augmentation des fonctions de barrière en stimulant la sécrétion de mucus, de peptides antimicrobiens et le maintien des jonctions serrées
- (4) Activité antimicrobienne indirecte par diminution du pH luminal
- (5) Immunomodulation de l'activité des cellules épithéliales et des cellules immunitaires

Figure 3: Représentation schématique des principaux mécanismes d'action des probiotiques (adapté de Ng *et al.*, 2009).

2. Les prébiotiques :

2.1. Définitions :

Un prébiotique est défini comme un « composé alimentaire spécifique non-digestible et non-absorbable dans l'intestin grêle, mais fermenté dans le gros intestin ».

Un composé prébiotique doit répondre à trois critères (Laparra et Sanz, 2010):

- Résistance à la digestion par les enzymes de l'hôte et à l'acidité gastrique,
- Capacité à être fermenté par les bactéries du microbiote intestinal,
- Capacité à moduler l'activité et à stimuler la croissance de bactéries bénéfiques de l'intestin.

La majorité des prébiotiques sont des oligosaccharides constitués d'enchaînements de 2 à 20 résidus de pentose ou d'hexose (Delzenne, 2003). Plusieurs prébiotiques sont déjà commercialisés. L'inuline, les fructooligosaccharides, les galacto-oligosaccharides et le lactulose sont les plus connus (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

2.2. Mode d'action des prébiotiques et effets associés :

Il y a aujourd'hui de nombreux travaux scientifiques sur l'utilisation des probiotiques, mais les connaissances sur l'utilisation des prébiotiques sont encore limitée, et les allégations santé concernant leur utilisation sont parfois infondées (De Vrese et Schrezenmeir 2008). Toutefois, de nombreuses études menées *in vivo* et *in vitro* ont montré que la consommation de prébiotiques pourrait avoir des avantages non-négligeables sur la santé et le bien-être du consommateur. En effet, les prébiotiques pourraient influencer l'absorption des minéraux (notamment le calcium). D'autres avantages ont été décrits : propriétés anticancéreuses potentielles, rôle dans le métabolisme des lipides, et effets immunomodulateurs (Macfarlane *et al.*, 2008).

Les effets physiologiques des prébiotiques sont liés à leur structure moléculaire et à leur capacité à être fermentés par des bactéries commensales de l'intestin. Les bénéfices potentiels des prébiotiques sont attribués à deux mécanismes principaux:

- La reconnaissance directe de la structure de l'oligosaccharide par les cellules de la muqueuse intestinale conduisant à un renforcement de la barrière intestinale et la stimulation du système immunitaire,
- La fermentation par les microorganismes commensaux favorisant ainsi leur développement. Cela conduit à l'inhibition des pathogènes par différents mécanismes : (i) par compétition pour la source de carbone/d'énergie et pour les sites d'adhésion, (ii) par la production de substances antimicrobiennes, (iii) par la production d'acides gras à chaîne courte (iiii) et par un renforcement de la barrière intestinale et une immunomodulation après interaction avec ces bactéries.

Ces mécanismes sont résumés dans la figure suivante.

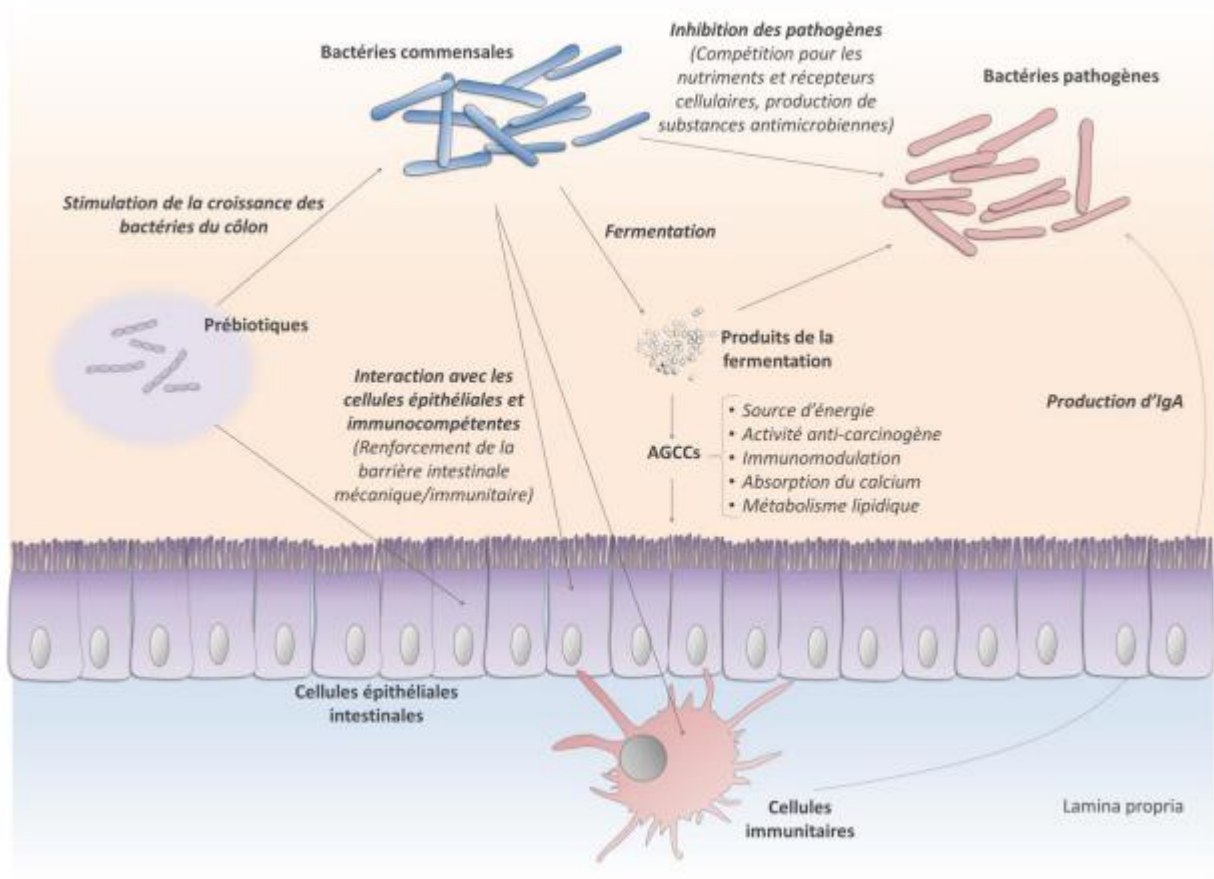


Figure 4: Mécanismes d'action et principaux effets associés à la consommation de prébiotiques (adapté de Saad *et al.*, 2014).

3. Effet des prébiotiques sur les probiotiques : Concept symbiotique :

3.1. Définitions :

Pour exercer leurs effets, les probiotiques doivent généralement entrer en compétition avec les microorganismes déjà présents dans le tractus intestinal, notamment pour les nutriments, tandis que les prébiotiques utilisés seuls, peuvent uniquement affecter la croissance des bactéries indigènes. Afin d'améliorer l'effet de chacun, la combinaison de probiotiques et de prébiotique est un concept d'intérêt. ANDERSSON *et al.*, (2001) ont défini les symbiotiques comme « un mélange de probiotiques et de prébiotiques qui affecte de manière positive la santé de l'hôte, en augmentant la survie et l'implantation de microorganismes vivants, présents dans un complément alimentaire, dans le tractus gastro-intestinal de l'hôte ».

Ce concept a été validé par l'AFSSA en 2003, mais si une telle relation est possible, elle doit être scientifiquement démontrée.

3.2. Effets bénéfiques des symbiotiques :

On peut distinguer deux types d'effets sur la santé différents lors de la consommation d'un symbiotique :

- Soit un effet additionnel des effets du prébiotique et du probiotique,
- Soit un effet synergique comme le laisse entendre la définition initiale.

Deux études réalisées récemment sur un additif alimentaire à usage vétérinaire, SYMBIOVEBA®, sur les mammites subcliniques, se sont conclues par des résultats positifs (Abdennebi *et al.*, 2020 ; Lamari *et al.*, 2021).

Mais, les résultats obtenus avec les symbiotiques sont encore trop peu nombreux pour conclure quant à leurs effets bénéfiques. Cela est dû au fait que d'une part, il manque encore aujourd'hui des informations concernant les pathologies intestinales à traiter, et d'autre part, que les mécanismes associés à la consommation de symbiotiques sont pratiquement inconnus, la plupart des études réalisées étant des essais cliniques. Tout comme pour les probiotiques et les prébiotiques, la compréhension du mode d'action de chacun des acteurs est absolument nécessaire afin d'optimiser leur utilisation.

Partie expérimentale

1. Problématique :

L'usage des antibiotiques a pour objectif de maintenir les animaux en bonne santé et de contribuer à leur bien-être. Outils indispensables, ces médicaments permettent de contrôler le niveau sanitaire et d'assurer la qualité et la productivité dans les élevages. Mais, avec l'apparition des antibiorésistances suite à une utilisation abusive de ces molécules et qui sont potentiellement transmissibles à l'homme via l'alimentation ou par contact avec des bactéries résistantes ou via les mécanismes de transfert entre bactéries, il est devenu nécessaire de développer des alternatives telles les probiotiques, prébiotiques et symbiotiques.

2. Objectif :

L'objectif de cette étude est d'évaluer in vitro l'activité antibactérienne d'un symbiotique « SYMBIOVEBA » sur des souches d'entérocoques multirésistantes d'origine aviaire, et l'effet de leur association avec les antibiotiques.

3. Matériel:

3.1. SYMBIOVEBA :

C'est un additif alimentaire purement biologique à usage vétérinaire. SYMBIOVEBA produit biologique permet à l'animal après l'administration par voie orale de rééquilibrer le pH de rumen, d'améliorer ses performances zootechniques (augmentation de la production laitière, de prévenir les troubles digestif, aussi de renforcer son système immunitaire et de maintenir de bon état générale de l'animal.

➤ Composition :

SYMBIOVEBA, produit biologique composé de plantes médicinales (TARAXACUM OFFICINALIS, ZINGIBER OFFICINALIS), de probiotiques *Lactobacillus* et *Saccharomyces cervicie*), d'enzymes, d'extrait végétaux et de l'eau, obtenu avec exclusif MESEN patenté.

➤ Indication :

SYMBIOVEBA est un produit biologique indiqué pour :

- Favoriser l'appétit.
- Rééquilibrer le PH du rumen.

- Renforcer la flore intestinale par les bons microorganismes afin d'améliorer la digestion des aliments et augmenter les apports nutritifs pour une production de lait de qualité.
- Augmenter de la production laitière
- La prévention des troubles digestifs chez l'animal (constipation, diarrhée, météorisation, acidose, alcalose).
- Effet énergisant en cas de fatigue.



Figure 5: SYMBIOVEBA.

3.2. Souches bactériennes cibles :

Notre étude s'est portée sur deux souches bactériennes multirésistantes, qui sont : *E. faecalis* et *E. faecium*.

Les caractéristiques et l'origine de ces souches sont reportées dans le tableau suivant.

Tableau 4 : Caractéristiques et origine des souches bactériennes cibles.

Souches testées	Type de résistance	Origine
<i>E. faecalis</i>	Tétracycline – Erythromycine – Pénicilline.	Poulet de chair
<i>E. faecium</i>	Tétracycline – Erythromycine – Pénicilline – Chloramphénicol.	Dinde

3.3. Milieux de culture :

Dans le but d'obtenir des colonies jeunes de 24 heures, les souches conservées ont été repiquées sur une gélose nutritive (IPA).

Pour l'étude de l'activité antibactérienne, la gélose Mueller Hinton (IPA) a été utilisée.

4. Méthodes :

4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne du symbiotique par la méthode de disques :

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne du symbiotique est celle de diffusion sur milieu gélosé, inspirée de la méthode de l'aromatogramme, comme le montre la figure suivante.

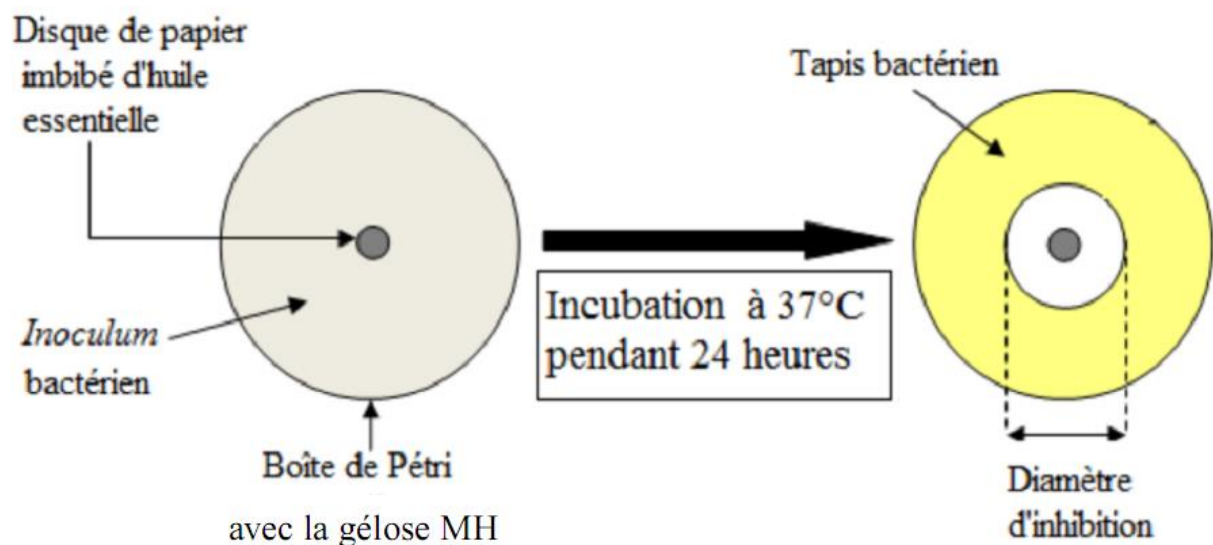


Figure 6: Illustration de la méthode d'aromatogramme (Zaiki, 1988).

- **Mode opératoire :**

- Préparation de la suspension bactérienne :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur le milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

➤ Ensemencement :

- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en tournant) sur la paroi du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée (Mueller Hinton), de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte à 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

➤ Imprégnation des disques :

Un disque stérile de papier wattman de 6 mm de diamètre est déposé à l'aide d'une pince stérile sur gélose et imprégné de 10 µl du symbiotique. Les boîtes de Pétri sont ensuite placées à l'étuve à température de 37°C pendant 18 à 24 heures.

➤ Lecture :

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque souche.

La lecture des résultats se fait par la mesure du \emptyset de la zone d'inhibition en mm selon la fourchette proposée par Ponce *et al.* (2003) pour les huiles essentielles, comme suit :

6 mm $\leq \emptyset \leq$ 8 mm : non sensible.

9mm $\leq \emptyset \leq$ 14 mm : sensible.

15 mm $\leq \emptyset \leq$ 19 mm : très sensible.

$\emptyset \geq 20$ mm : extrêmement sensible.

4.2. Etude de l'association « Symbiotique/ antibiotique » par la méthode des disques :

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association Symbiotique/ATB est celle de diffusion sur milieu gélosé.

- **Mode opératoire :**

Deux disques du même antibiotique sont déposés sur la surface gélosée de chaque boîte de Pétri préalablement ensemencée avec la souche bactérienne cible.

Dans notre expérimentation, nous avons utilisé la pénicilline, antibiotique à lequel les deux souches étudiées sont résistantes, la charge du disque est de 10 UI.

- A l'aide d'une micropipette, 10 μ l du symbiotique sont déposés sur l'un des disques d'ATB;
- Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 h;
- Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré en mm.

Le résultat étant la moyenne de trois essais ; les résultats ont été interprétés comme suit:

- ✓ **Indifférent** : les deux zones d'inhibition de l'antibiotique seul et de l'association ATB/Symbiotique restent inchangées.
(A+B) = Effet A ou Effet B.
- ✓ **Addition** : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de l'antibiotique seul et l'association ATB/Symbiotique
(A+B) = Effet A + Effet B.
- ✓ **Synergie** : la zone d'inhibition de l'association ATB/Symbiotique est plus importante que celle de l'antibiotique tout seul.
(A+B) > Effet A + Effet B.
- ✓ **Antagonisme** : la zone d'inhibition de l'association ATB/Symbiotique est moins importante que celle de l'antibiotique seul.
(A+B) < Effet A ou Effet B.

5. Résultats et discussion :

5.1. Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne du symbiotique :

La figure 7, montre l'effet du SYMBIOVEBA vis-à-vis d'une souche d'entérocoque.



Figure 7 : Zone d'inhibition induite par SYMBIOVEBA sur une souche d'entérocoque multirésistante.

Le tableau suivant montre les diamètres d'inhibition ainsi que la sensibilité des souches bactériennes au SYMBIOVEBA.

Tableau 05 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par SYMBIOVEBA.

Souche	10 μ l de SYMBIOVEBA	
	\varnothing d'inhibition (mm)	Sensibilité
<i>E.faecalis</i>	12,5 \pm 0.70	+
<i>E.faecium</i>	12 \pm 0.41	+

- Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm Ecart type.

- Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d'inhibition.

Nos résultats montrent que le symbiotique possède un effet antibactérien sur les deux souches : *E.faecalis* et *E.faecium*, avec des diamètres d'inhibition de 12,5 mm et 12 mm respectivement.

Effectivement, de nombreuses études suggèrent que les probiotiques ont un grand potentiel comme outil d'amélioration de la santé et du bien-être (Sanders *et al.*, 2014).

Des essais pour étudier l'effet thérapeutique d'un symbiotique (Symbioveba®) sur les mammites subcliniques chez les vaches laitières ont été menés en Algérie, et les résultats indiquent clairement que le symbiotique a un effet positif sur la qualité microbiologique du lait. (Abdennebi *et al.*, 2020 ; Lamari *et al.*, 2021). ABDENNEBI *et al.*, (2020) ont constaté après avoir administré le symbiotique au lot expérimental, une diminution significative du niveau de *S. aureus* et de *E. coli* dans le lait dès la première introduction du symbiotique. Ils ont conclu que cette diminution significative est probablement due à l'action antimicrobienne du symbiotique.

Aussi, selon CHAUCHEYRAS-DURAND *et al.*, (2008), les symbiotiques induisent une diminution de la charge microbienne pathogène digestive avec une augmentation des la microflore digestive bénéfique et par conséquent une diminution de la contamination environnementale des vaches. Certaines bactéries probiotiques ont montré une capacité à d'inhiber l'invasion des cellules épithéliales mammaires bovines par *E. coli* et *S. aureus* (Assis *et al.*, 2015).

LAMARI *et al.*, (2021) ont conclu que l'administration de SYMBIOVEBA® aux vaches souffrant de mammites subcliniques au cours de lactation a montré un effet curatif considérable. Cela pourrait être dû à l'un des composants du symbiotique qui est le probiotique *Lactobacillus*. Ce dernier est testé *in vitro*, et il a montré une aptitude à produire des composants tels que les acides organiques, du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines ayant une activité antimicrobienne (Nader-Macias *et al.*, 2008 ; Charlier *et al.*, 2009). Par conséquent, une infusion intra mammaire de la bactériocine produite par *Lactococcus lactis* s'est avérée aussi efficace qu'une injection d'antibiotique conventionnelle (Crispie *et al.*, 2008 ; Klostermann *et al.*, 2008).

5.2. Résultats de l'association ATB/Symbiotique :

La figure 8 montre un effet indifférent de la combinaison ATB/Symbiotique vis-à-vis de *E.faecalis*.

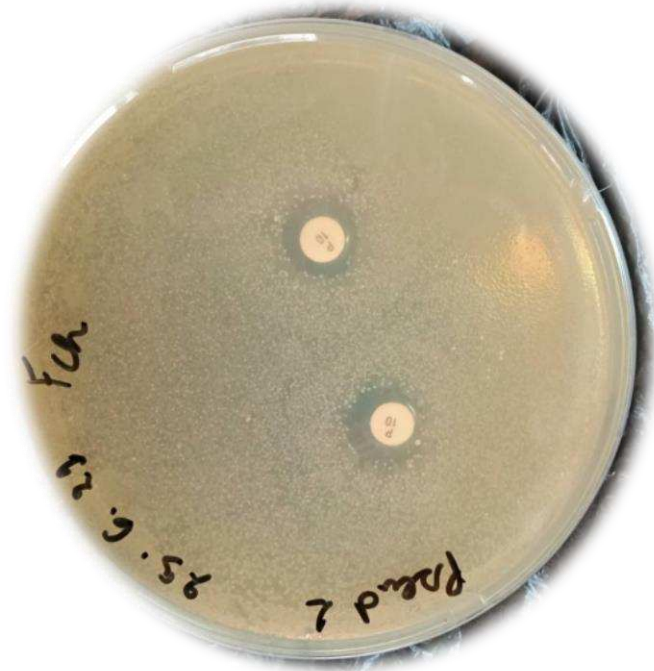


Figure 8 : Effet indifférent de l'association ATB/Symbiotique vis-à-vis de *E.faecalis*.

La figure 9 montre un effet additif de la combinaison ATB/Symbiotique vis-à-vis de *E.faecium*.



Figure 9: Effet additif de l'association ATB/Symbiotique vis-à-vis de *E.faecium*.

Les zones d'inhibition obtenues sont reportées dans le tableau 6.

Tableau 06 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par l'association ATB/SYMBIOVEBA.

Souche	Pénicilline (PEN) 10 UI		SYMBIOVEBA/ PEN	
	Ø d'inhibition (mm)	interprétation	Ø d'inhibition (mm)	Interprétation
<i>E.faecalis</i>	09±0.62	Résistant	09±0.40	Effet indifférent
<i>E.faecium</i>	/	Résistant	10±0.70	Effet additif

- Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm Ecart type.
- Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d'inhibition.
- Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition induite par la Pénicilline pour *Enterococcus* : $\varnothing \leq 14$: Résistant.
 $\varnothing \geq 15$: Sensible.

Nous constatons que l'association PEN/Symbiotique présente un effet indifférent sur *E.faecalis*, et un effet additif sur *E.faecium*.

Il serait intéressant d'élargir cette étude sur les autres gammes d'antibiotiques afin de rechercher un effet synergique. Toutefois, une synergie ou un antagonisme observé in vitro ne sont pas toujours extrapolables en clinique.

Conclusion

Conclusion

Ce travail a été mené dans le cadre de l'évaluation de l'activité antibactérienne d'un symbiotique à usage vétérinaire, SYMBIOVEBA.

Les résultats indiquent que le symbiotique a exercé une activité antibactérienne à l'encontre des deux souches d'entérocoques testées. L'étude de l'activité antibactérienne du symbiotique associé avec un antibiotique témoigne un effet indifférent vis-à-vis de *E.faecalis*, et un effet additif vis-à-vis de *E.faecium*.

Ainsi, ces résultats demeurent prometteurs, et pourraient servir de base pour des études cliniques ultérieures afin de confirmer l'efficacité antimicrobienne de ce produit naturel et de proposer leur utilisation en tant qu'agents antimicrobiens alternatifs, palliant aux effets secondaires des antibiotiques et aux résistances bactériennes accrues.

Ce travail nécessite d'être poursuivi pour étudier les activités antibactérienne envers les autres germes pathogène, car le problème de la résistance bactérienne se pose de plus en plus ainsi que les effets négatifs sur la santé humaine des additifs de synthèse.

Il serait intéressant aussi de procéder à une analyse approfondie sur les symbiotiques afin d'identifier les composés ayant une activité antibactérienne.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abdennebi I, Messai C.R., Ouchene, N. Ouchene-khelifi N.A., Ghallache, L. Ait-Oudhia K., Hamdi, T.M. Khelef. D. 2020.** Symbiotic effect on some microbiological species and physicochemical properties in milk in subclinical mastitis of dairy cows. *Agricultural Science and Technology*, vol. 12, no 4, pp 364-370.
- **Aboya, J-L. 2013.** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. *Agricultural sciences*. Université de Bretagne occidentale – Brest; Université Félix Houphouët- Boigny, 2013. French.
- **Alekshun M.N. et Levy, S.B. 2007.** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 2007, 128, 1037-1050.
- **Al-Sheraji S. H., Ismail A., Manap M. Y., Mustafa S., Yusof R. M. et Hassan F. A. 2013.** "Prebiotics as functional foods: a review." *Journal of functional foods*. 5(4): 1542-1553.
- **Andersson H., Asp N.-G., Bruce A., Roos S., Wadstrom T. et Wold A. E. 2001.** "Health effects of probiotics and prebiotics: a literature review on human studies." *Scandinavian journal of gastroenterology. Supplement*. 45: 58-75.
- **Assis BS, Germon P, Silva AM, Even S, Nicoli JR and Loir YL, 2015.** *Lactococcus lactis* V7 inhibits the cell invasion of bovine mammary epithelial cells by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Beneficial Microbes*. 6(6), 879-886. <https://doi.org/10.3920/bm2015.0019>

C

- **Cavaco M., Hasman h., xia s., Aarestrup f.m. 2009.** *qnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* sérovar Kentucky and *Bovismorbificans* strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, 53, 603-608.
- **Charlier, J., J. Höglund, G. Vonsamson-Himmelstjerna, P. Dorny and J. Vercruyse. 2009.** Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: impact on production, diagnosis and control. *Vet. Parasitol.* 164, 70-79.

- **Chaucheyras-Durand F, Walker ND and Bach A, 2008.** Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 5-26.
- **Crispie, F., M. Alonso-Gomez, C. O'loughlin, K. Klostermann, J. Flynn, S. Arkins, W. Meaney, R. Paul Ross and C. Hill. 2008.** Intramammary infusion of a live culture for treatment of bovine mastitis: efect of live lactococci on the mammary immune response. *J. Dairy Res.* 75, 374-384.

D

- **Delzenne N. M. 2003.** "Oligosaccharides: state of the art." *Proceedings of the nutrition Society* 62(01): 177-182.
- **De Vrese M. et Schrezenmeir J. 2008.** "Probiotics, prebiotics, and synbiotics." *Advances in biochemical engineering/biotechnology* 111: 1-66.

E

- **Eliopoulos, G.M., 2008.** "Antimicrobial resistance in the Enterococcus", In: "Bacterial Resistance to Antimicrobials", Wax, R.G., Salyers, A.A., Taber, H., Editor. CRC Press, 255p.

F

- **Facklam, R.R., Carvalho, M.G.S. and Teixeira, L.M. 2002.** "History, Taxonomy, Biochemical Characteristics, and Antibiotic Susceptibility Testing of Enterococci", In: "The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance", Gilmore, M.S. Editor. ASM Press: Washington, D.C., 1-54.
- **FAO/WHO, 2002.** Guidelines for the evaluation of probiotics in foods, Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report.

G

- **Guardabassi et Courvalin, 2006.** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press: Washington, 2006, 1-18.

- **Giraffa, G., 2002.** "Enterococci from foods", FEMS. Microbiol. Rev., 26(2), (2002), 163-71.

H

- **Henriques Normak B. et Normar, S. 2002.** Evolution and spread of antibiotic resistance. Journal of internal medicine, 2002, vol 252, pp. 91-106.

K

- **KLOSTERMANN, K., F. CRISPIE, J. FLYNN, R. P. ROSS, C. HILL and W. MEANEY 2008.** Intramammary infusion of a live culture of *Lactococcus lactis* for treatment of bovine mastitis: comparison with antibiotic treatment in field trials. J. Dairy Res. 75, 365-373.

L

- **Lamari Imane, Mimoune Nora and Khelef Djamel. 2021.** Efect of feed additive supplementation on bovine subclinical mastitis. Veterinarska Stanica 52 (4), 445-460.
- **Laparra J. M. et Sanz Y. 2010.** "Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals." Pharmacological research 61(3): 219-225.

M

- **Macfarlane G. T., Steed H. et Macfarlane S. 2008.** "Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics." Journal of applied microbiology 104(2): 305-344.
- **Muylaert A. et Mainil J.G. 2012.** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». Ann. Méd. Vét., 156, 109- 123.

N

- **Nader-Macias, M. E., M. C. Otero, M. C. Espeche and N. C. Maldonado. 2008.** Advances in the design of probiotic products for the prevention of major diseases in dairy cattle. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 35, 1387-1395.
- **Nagpal R., Kumar A., Kumar M., Behare P., Jain S. et Yadav H. 2012.** "Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review." FEMS microbiology letters 334(1): 1-15.

- **Ng S. C., Hart A. L., Kamm M. A., Stagg A. J. et Knight S. C. 2009.** "Mechanisms of action of probiotics: recent advances." *Inflammatory bowel diseases* 15(2): 300-310.
- **Nikaido, H. 2009.** Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.*, 2009, 78, 119-146.

R

- **Rambaud J.-C., Buts J.-P. et Corthier G. 2004.** Flore microbienne intestinale: Physiologie et pathologie digestives, John Libbey Eurotext.
- **Robiczek A., Jacoby G.A., Hooper D.C. 2006.** The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis.*, 6, 629-640.

S

- **Saad N., Villéger R., Ouk T.-S., Delattre C., Urdaci M. et Bressollier P. 2014.** Probiotics, prebiotics, and synbiotics for gut health benefits. *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods*, Taylor & Francis Group: 363-386.
- **Sanders ME, Lenoir-Wijnkoop I, Salminen S, Merenstein DJ, Gibson GR, Petschow BW, Nieuwdorp M, Tancredi DJ, Cifelli CJ, Jacques P and Pot B, 2014.** Probiotics and prebiotics: prospects for public health and nutritional recommendations. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1309, 19-29. <https://doi.org/10.1111/nyas.12377>
- **Simjee S., Jensen, L.B., Donabedian, S.M. and Zervos, M.J., 2006.** "Enterococcus", In: "Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin", Aarestrup, F.M., Editor. ASM Press: Washington, (2006), 315-328.

T

- **Teixeira L. and Facklam, R., 2003.** "Enterococcus", In: "Manual of Clinical Microbiology", (2003), 422-433.

V

- **Vanden Bogaard, A.E. and Stobberingh, E.E., 2000.** "Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans", *Int. J. Antimicrob. Agents*, 14(4), 327-35.

W

- **Wang M., Guo Q., Xu X., Wang X., Ye X., Wu S., Hooper D.C. 2009.** New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, 53, 1892-1897.
- **Wax, R.G., Salyers, A.A. and Taber, H., 2008.** "Bacterial Resistance to Antimicrobials", Second ed., ed. L.K. Boca Raton, FL: CRC Press, (2008).

Z

- **Zaika L.L. 1988.** Spices and Herbs: their antimicrobial activity and its determination. *J of Food Safety.* 9, 97-117.