

RECHERCHE DE *SALMONELLA*, *LISTERIA* ET DE BACTÉRIES RÉSISTANTES AUX CÉPHALOSPORINES DE TROISIÈME GÉNÉRATION DANS DU FROMAGE AKKAWI AU NORD DU LIBAN

Fouad Dabboussi^{1,2}, Khaled El Omari^{2,3}, Majdeddine Mouzawak², Charbel Bayssari² et
Monzer Hamze^{1,2}

¹ Laboratoire de microbiologie: environnement et santé, centre Azm pour la recherche en biotechnologie et ses applications, école doctorale de science et technologie, Université Libanaise, Tripoli, Liban

² Université Libanaise, Faculté de santé publique-3, Tripoli, Liban

³ Laboratoire de la Chambre de commerce, d'industrie et d'agriculture de Tripoli, Liban
mhamze@monzerhamze.com

(Received 23 April 2012 - Accepted 1 October 2012)

RÉSUMÉ

La détection et la limitation des microorganismes responsables de maladies sont des parties importantes de la microbiologie alimentaire. Les fromages et les produits laitiers peuvent servir de véhicules pour la transmission de maladies infectieuses. Dans ce souci, la présente étude vise d'une part la recherche de deux bactéries importantes en microbiologie alimentaire, Salmonella spp et Listeria monocytogenes par la technique immunologique mini-VIDAS et d'autre part la recherche des bactéries résistantes aux antibiotiques par un isolement sur milieu supplémenté par une céphalosporine de troisième génération.

Cinquante échantillons de fromage Akkawi choisis au hasard de la région du nord Liban ont été testés. La recherche de Listeria monocytogenes et de Salmonella spp par la technique mini-VIDAS a donné cinq résultats positifs pour Listeria monocytogenes et deux pour Salmonella spp. Une confirmation par une identification biochimique a montré que sur les 5 résultats mini-VIDAS positifs pour Listeria monocytogenes, un isolat a été identifié comme Listeria grayi, 1 comme Aerococcus viridans, 1 comme Streptococcus uberis, 1 comme Brevibacterium spp et 1 comme CDC groupe 1. Les deux échantillons mini-VIDAS positifs pour Salmonella ont été identifiés comme Salmonella spp groupe 1 et Enterobacter cloacae.

La recherche des bactéries bacilles Gram négatif résistantes aux céphalosporines de troisième génération a montré que sur les 50 échantillons analysés, 21 sont déclarés positifs, soit 42%. L'analyse des résultats obtenus a révélé la présence de 11 isolats appartenant à la famille des entérobactéries et 15 isolats non-entérobactéries. L'analyse des profils de sensibilité aux antibiotiques a révélé dans le groupe entérobactéries la présence de six isolats producteurs de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) (3 E. coli, 2 Klebsiella pneumoniae and 1 Rhodospirillum rubrum) et 3 producteurs de céphalosporinase hyperproduite (Enterobacter cloacae, Serratia odorifera and Hafnia alvei). En ce qui concerne les non-entérobactéries, on note la présence de 8 souches d'Acinetobacter calcoaticus, 3

Burkholderia cepacia, 2 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *Sphingomonas paucimobilis* et 1 *Stenotrophomonas maltophilia*. Les résultats sur la présence des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les échantillons de fromages analysés révèlent un vrai problème pour la santé publique et doit attirer l'attention sur la nécessité de mettre en place les systèmes de contrôle adéquats dans ce pays.

Mots-clés: fromage, *Salmonella*, *Listeria*, bactéries résistantes, Liban

ABSTRACT

The detection and limitation of microorganisms that cause disease are important parts of food microbiology. Cheese and dairy products can serve as vehicles for transmission of infectious diseases. This study aims firstly to examine the presence of two important bacteria in food microbiology, *Salmonella* spp and *Listeria monocytogenes* by the immunological technique mini-VIDAS and secondly to isolate the multi drug-resistant bacteria using a medium supplemented by a third-generation cephalosporin.

Fifty samples of Akkawi cheese randomly selected from the region of north Lebanon were tested. The screening for *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp by the mini-VIDAS technique gave five positive results for *Listeria monocytogenes* and two positive results for *Salmonella* spp. The confirmation by biochemical identification showed that among the 5 mini-VIDAS positive results for *Listeria monocytogenes*, one isolate was identified as *Listeria grayi*, one as *Aerococcus viridans*, one as *Streptococcus uberis*, one as *Brevibacterium* spp and one as CDC group 1. The two positive mini-VIDAS *Salmonella* spp were identified as *Salmonella* group 1 and *Enterobacter cloacae*.

The search for bacteria resistant to antibiotics has shown that out of the 50 samples analyzed, 21 samples contained Gram negative bacilli resistant to beta-lactam antibiotics (42%). Results showed the presence of 11 isolates belonging to the family of Enterobacteriaceae and 15 non-enteric bacteria isolates. The antibiotic susceptibility profiles have demonstrated that in the group of Enterobacteriaceae, six isolates were ESBL (extended spectrum beta-lactamase) producers (3 *E. coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae* and 1 *Rhanella aquatilis*) and 3 were cephalosporinase hyper-producing isolates (*Enterobacter cloacae*, *Serratia odorifera* and *Hafnia alvei*). Regarding the non-enteric bacteria, one notes the presence of 8 strains of *Acinetobacter calcoaticus*, 3 *Burkholderia cepacia*, 2 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *Sphingomonas paucimobilis* and 1 *Stenotrophomonas maltophilia*. Results on the presence of bacteria resistant to antibiotics in the analyzed cheese samples indicate a real problem for public health and should draw attention to the need to implement adequate control systems in this country.

Keywords: cheese, *Salmonella*, *Listeria*, resistant bacteria, Lebanon

INTRODUCTION

Au Liban, la majorité des fromagers artisanaux ou semi-industriels pratiquent uniquement un examen visuel et olfactif (couleur, odeur, aspect, saveur) afin d'indiquer si le lait est acceptable pour la transformation fromagère. En santé publique, ce type de production représente un risque non négligeable de toxi-infections alimentaires (Farber & Peterkin, 1991; Decludt, 1996). Dans le monde, des épidémies dues à la consommation de fromages contaminés par *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) ont eu lieu en Californie (USA)

en 1985 (142 cas décelés dont 48 décès) et en Canton de Vaud (Suisse) entre 1983 et 1987 (122 personnes atteintes dont 33 décès). Au Kansas (USA) en 1976 et au Canada en 1982, *Salmonella spp* était à l'origine de toxi-infections alimentaires dues à la consommation de fromage à pâte dure de type Cheddar (Sharp, 1987). Plus récemment, en 2010, une épidémie à *L. monocytogenes* a eu lieu à Louisiana (USA) où 14 personnes ont été atteintes avec 2 décès suite à la consommation de fromages contaminés (CDC, 2011). Au Liban, la fièvre typhoïde sévit de manière endémique ; en effet, 750 cas ont été déclarés en 2000, 580 en 2001, 643 en 2002, 891 cas en 2003 et 635 cas en 2004 (Hamze *et al.*, 2008).

Au cours des deux dernières décennies, les agents pathogènes résistants aux antibiotiques sont devenus un sérieux problème de santé publique. Une des raisons de l'augmentation de cette résistance pourrait résider dans l'utilisation préventive et thérapeutique d'antibiotiques en production animale (Corpet, 2000). Les bactéries résistantes rencontrées dans les élevages peuvent entrer dans la chaîne alimentaire et contaminer l'homme. La flore fécale des animaux peut contaminer les denrées alimentaires et contribuer à la flore microbienne de nombreux aliments (Sanders, 2001). Un autre facteur d'apparition de résistance chez l'homme est lié aux antibiotiques eux-mêmes et non aux bactéries. Ils peuvent en effet laisser des résidus dans la viande ou le lait (Robertson, 1995). Beaucoup d'études ont souligné la présence de bactéries antibiorésistantes dans l'eau douce polluée par des contaminants fécaux humains ou animaux (Junco *et al.*, 2001; Papapetropoulou *et al.*, 1994; Lévi, 2006). Cela pourrait conduire à l'émergence et à la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques dans la communauté microbienne de l'environnement (Young, 1993). Une étude réalisée par Hamze *et al.*, en 2010 sur le portage intestinal des bactéries multirésistantes (BMR) des enfants hospitalisés au Nord Liban a montré que 65% des enfants étaient colonisés par des entérobactéries résistantes aux antibiotiques, tout particulièrement des souches d'*Escherichia coli* productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) (Hamze *et al.*, 2010).

L'objectif de la présente étude est la recherche de deux bactéries à risque majeur en santé humaine (*Salmonella spp* et *L. monocytogenes*) et de bactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération dans des fromages Akkawi commercialisés dans la région du Nord Liban.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a eu lieu du 22 mai au 15 juin 2011 au laboratoire de microbiologie du Centre Azm de recherche en biotechnologie et ses applications (Université Libanaise) pour la recherche des bactéries résistantes. La recherche de *Salmonella spp* et *L. monocytogenes* a eu lieu au laboratoire de la Chambre de commerce et d'industrie de Tripoli. Au total, 50 échantillons de fromage Akkawi ont été achetés au hasard des régions de Zgharta, Koura et dans les différents quartiers de la ville de Tripoli. Les échantillons sont acheminés au laboratoire dans une enceinte réfrigérée puis analysés dans les trois heures suivantes. L'Akkawi est un fromage frais au lait de vache, de chèvre ou de brebis, écrémé et pasteurisé, blanc et à pâte molle sans croûte. Le fromage Akkawi est préparé par une méthode traditionnelle simple qui n'a pas été modifiée. En effet, une coagulation de la caséine du lait est provoquée par la présure à 35 °C. Le coagulum obtenu est mis sous pression pour produire le fromage.

Recherche de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp* par le test mini-VIDAS® (bioMérieux, Inc, Durham, NC)

L'essai VIDAS est un test immuno-enzymatique automatisé permettant après un double enrichissement la détection d'antigènes de *L. monocytogenes* et de *Salmonella spp* dans des échantillons alimentaires (AFNOR, 1996).

Pour *Listeria*, 25 g de fromage sont homogénéisés dans un sac de type Stomacher (Interscience, St Nom, France) en présence d'un bouillon Fraser (½) et incubés 24 h à 30°C suivi par un repiquage de 1 ml de bouillon Fraser complet et incubé 24h à 30°C. Enfin, le test VIDAS est réalisé à partir d'une aliquote de Fraser complet. Une confirmation des résultats positifs a été réalisée par repiquage à partir du bouillon Frazer sur gélose au sang (Biorad, France) suivi d'une incubation à 37°C. Les colonies suspectes ont subi une coloration de Gram, un test de catalase et une identification biochimique par la galerie RapID CB plus (Remel, USA).

Pour *Salmonella*, 25 g de fromage sont homogénéisés dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée et incubés 22 h à 37°C puis homogénéisés dans un sac de type Stomacher (Interscience, St Nom, France). Après incubation, 0,1 ml de la suspension est transféré dans 10 ml de bouillon SX2 (BioMérieux, France) suivi d'une incubation pendant 22 h à 41°C. Finalement, 0,5 ml du bouillon SX2 sont transférés dans le puits échantillon de la cartouche mini-VIDAS (AFNOR, 2002).

Les résultats positifs ont été confirmés par culture à partir du bouillon SX2 sur une gélose sélective *Salmonella Shigella* (Biorad, France). Les colonies caractéristiques suspectes ont été identifiées par le système d'identification RapID ONE (Remel, USA).

Recherche des bactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération

Pour la recherche des bactéries Gram négatif résistantes aux antibiotiques, 10 g de fromage sont homogénéisés dans 90 ml d'eau peptonée. 100 µl de cette dilution sont étalés à la surface d'une gélose Drigalski (Biorad, France) supplémentée par un antibiotique de céphalosporine de troisième génération (Céfotaxime, 2 mg/L), suivie d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, toute colonie obtenue a subi une coloration de Gram, le test d'oxydase et une identification complète par le système API 20E ou 20NE (BioMérieux, France). Un antibiogramme complet a été réalisé pour chaque isolat par la méthode de diffusion sur gélose selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, CA-SFM (Bonnet *et al.*, 2010). Pour la mise en évidence des isolats producteurs de BLSE (bêta-lactamases à spectre élargi), le disque de Co-Amoxiclave est déposé entre les disques de Céfotaxime, Céftazidime, Céfépime et Aztréonam; l'interprétation est effectuée selon les critères de Legrand *et al.* (1989). Les molécules suivantes ont été testées (disques Biorad, France) : ampicilline (10 µg), co-amoxiclave (20/10 µg), ticarcilline (75 µg), pipéracilline (75 µg), pipéracilline + tazobactam (75/10 µg), imipénème (10 µg), aztréonam (30 µg), cefalotine (30µg), céfuroxime (30 µg), céfoxitine (30 µg), céftazidime (30 µg), céfépime (30 µg), céfixime (10 µg), céfotaxime (30 µg), amikacine (30 µg), gentamicine (15 µg), tétracycline (30 UI), colistine (50 µg), acide nalidixique (30 µg), ciprofloxacine (5 µg), ofloxacine (5 µg), co-trimoxazole (1.25/23.75 µg).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Recherche de *Listeria monocytogenes* et de *Salmonella spp*

La technique mini-VIDAS a donné deux résultats positifs (échantillons 20 et 48) pour *Salmonella spp*. La confirmation bactériologique par identification biochimique RapId ONE (Remel, USA) a montré pour l'échantillon 48 un vrai résultat positif (*Salmonella* groupe 1) alors que pour l'échantillon 20, on a eu un résultat faux-positif (*Enterobacter cloacae*) (Tableau 1). La technique mini-VIDAS consiste à chercher des antigènes spécifiques pour une bactérie donnée. Pour avoir une bonne spécificité, ces antigènes doivent être uniques à la bactérie cherchée. Le résultat faux-positif obtenu par la technique mini-VIDAS est causé par une réaction antigénique croisée qui existe entre *Salmonella* et *Enterobacter*, deux bactéries appartenant à la même famille (*Enterobacteriaceae*).

TABLEAU 1

Détection des Bactéries *Salmonella* et *Listeria* dans des Échantillons de Fromage Akkawi par le Test Mini-VIDAS et une Confirmation Biochimique

Echantillons	<i>Listeria</i>		<i>Salmonella</i>	
	mini-VIDAS	Identification biochimique RapID CB	mini-VIDAS	Identification biochimique RapId ONE
15	+	<i>Listeria grayi</i>	-	-
20	-	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
24	+	CDC groupe 1	-	-
44	+	<i>Aerococcus viridans</i>	-	-
48	+	<i>Streptococcus uberis</i>	+	<i>Salmonella</i> groupe 1
50	+	<i>Brevibacterium spp</i>	-	-

Les échantillons non cités dans le Tableau sont avérés négatifs pour *Listeria* et *Salmonella*

En ce qui concerne la recherche de *L. monocytogenes* dans les 50 échantillons de fromage, 5 ont donné un résultat positif par la technique mini-VIDAS (échantillons 15, 24, 44, 48 et 50). L'identification biochimique par la galerie RapID CB plus (Remel, USA) a révélé que l'échantillon 15 contient *Listeria grayi*, alors que pour les échantillons 24, 44, 48 et 50, le résultat était CDC groupe 1, *Aerococcus viridans*, *Streptococcus uberis*, et *Brevibacterium spp* respectivement.

Malgré la validation AFNOR (Nr BIO-12/3-03/96) de la technique mini-VIDAS *Listeria* (AFNOR, 1996) qui conclut l'absence d'une réaction croisée avec une autre espèce du genre *Listeria* ou avec d'autres groupes bactériens, cette étude ainsi que d'autres ont montré la présence de résultats faux-positifs. En effet, une étude menée par Vaz-Velho *et al.*, en 2000, sur 295 échantillons de poissons pour la recherche de *Listeria* par la technique de mini-VIDAS a donné 11 résultats faux-positifs (Vaz-Velho *et al.*, 2000).

Dans une autre étude réalisée par Bonardi *et al.*, en 2001, les auteurs ont comparé la méthode d'analyse conventionnelle avec la méthode mini-VIDAS pour la recherche de *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires pour en évaluer la spécificité. Ils ont analysé 125 échantillons (45 saucisses de viande de porc, 30 fromages Mozzarella et 50 fromages Ricotta de vache). Les résultats ont montré une spécificité de 100% de la méthode mini-VIDAS pour les produits laitiers et du 63,2% pour les saucisses de viande de porc (Bonardi *et al.*, 2001).

Une étude réalisée au Liban par Dib *et al.*, en 2008 sur la qualité chimique et microbiologique des fromages libanais, a révélé la présence des coliformes à des taux alarmants (72 à 86% des échantillons) dans tous les fromages analysés et dans toutes les régions et industries visitées. Le fromage Baladi a été le plus contaminé par *Salmonella* et *Listeria* (29% des échantillons sont non acceptables pour ces deux bactéries). Le fromage Baladi a toujours été associé à des risques pathogènes, principalement dus à un manque d'hygiène de manipulation du fromage durant sa production. *Listeria* a également été retrouvée dans 10% des fromages Akkawi et 17% des fromages Double crème (Dib *et al.*, 2008). Ces résultats sont proches de ceux de la présente étude. En effet, la majorité des industries fromagères au Liban est confrontée à de sérieux problèmes, entre autres, le manque d'hygiène de personnel, les mauvaises conditions environnementales aux alentours de l'industrie, les mauvais systèmes de drainage des eaux usées. De plus, la qualité de l'eau n'est pas suivie par des analyses microbiologiques régulières.

Recherche des bactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération

La recherche des bactéries bacilles Gram négatif résistantes aux bêta-lactamines a montré que sur les 50 échantillons de fromage analysés, il y avait 21 échantillons positifs, soit 42%. L'analyse des résultats obtenus a révélé qu'il y avait 11 isolats appartenant à la famille des entérobactéries et 15 isolats non-entérobactéries. L'analyse des profils de sensibilité aux antibiotiques a révélé dans le groupe entérobactéries la présence de six isolats producteurs des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) (3 *E. coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae* et 1 *Rhanella aquatilis*), 3 producteurs de céphalosporinase hyperproduite (*Enterobacter cloacae*, *Serratia odorifera* et *Hafnia alvei*), 1 productrice d'une pénicillinase haut niveau (*Rhanella aquatilis*) et 1 producteur d'une céphalosporinase bas niveau (*Pantoea agglomerans*). Le nombre total des entérobactéries résistantes aux céphalosporines troisième génération est 9 souches, soit 18% de l'échantillon. En ce qui concerne les non-entérobactéries, on note la présence de 8 souches d'*Acinetobacter calcoaticus*, 3 *Burkholderia cepacia*, 2 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *Sphingomonas paucimobilis* et 1 *Stenotrophomonas maltophiliae*. Le Tableau 2 regroupe les résultats d'identification de différentes bactéries résistantes isolées sur gélose de Drigalski + Céfotaxime (2 mg/L).

En analysant les résultats de sensibilité des souches identifiées comme *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophiliae*, on constate que ces souches étaient sensibles à l'imipénème, alors qu'elles devaient être résistantes à cette classe d'antibiotique. En plus *B. cepacia* était sensible à la colistine, alors qu'elle devait être résistante à cette molécule. *B. cepacia* est une espèce bactérienne résistante à des nombreux antibiotiques, notamment à la ticarcilline, l'imipénème, la plupart de céphalosporines, aux aminosides et aux polymyxines (Husson *et al.*, 2000). Également *Stenotrophomonas maltophiliae* possède une résistance aux antibiotiques suivants : ticarcilline, pipéracilline, imipénème, triméthoprime et fosfomycine (Courvalin & Soussy, 1996). De nombreuses publications ont déjà montré l'existence des

difficultés dans l'identification de ce groupe des bactéries par les systèmes disponibles, car les caractères phénotypiques sont très variables d'une souche à l'autre ; ce problème nécessite souvent la réalisation de tests complémentaires pour une identification spécifique (Larsen *et al.*, 1993 ; Glass & Popovic, 2005).

TABLEAU 2

Les Bactéries Multirésistantes Détectées dans Quelques Échantillons de Fromage Akkawi

Échantillons	Bactéries multirésistantes
1	<i>Rhanella aquatilis</i>
2	<i>Pantoea aglamerans</i>
3	<i>Burkholderia cepacia</i>
5	<i>Enterobacter cloacae</i>
6	<i>Hafnia alvei</i>
7	<i>Rhanella aquatilis</i> , <i>Serratia odorifera</i>
9, 10, 25, 30, 35, 36	<i>Acinetobacter calcoaticus</i>
11	<i>E.coli</i> , <i>Burkholderia cepacia</i>
20	<i>E.coli</i>
21	<i>Acinetobacter calcoaticus</i> , <i>Burkholderia cepacia</i>
31	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Sphingomonas paucimobilis</i>
37	<i>Acinetobacter calcoaticus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
38	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
39	<i>E. coli</i>
40	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
50	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Les Tableaux 3 et 4 montrent la sensibilité des bactéries résistantes isolées dans cette étude aux différentes molécules d'antibiotiques testées.

La sensibilité des souches des entérobactéries productrices des BLSE, a montré que l'ensemble des souches était sensible à l'imipénème et à la colistine. En effet, les entérobactéries jouent un rôle essentiel sur le plan infectieux et constituent la 2ème cause d'infections graves après les *cocci* à Gram positif. En cas d'infection causée par des entérobactéries, les bêta-lactamines interviennent en premier choix thérapeutique (surtout les céphalosporines à spectre étendu et les carbapénèmes) (Paterson & Bonomo, 2005). Les bêta-lactamines ont été confrontées au contre-point de la résistance, ce qui a été activement alimenté par la mise au marché de nouvelles classes de bêta-lactamines, qui sont devenues de

plus en plus rares alors que se développent en permanence de nouveaux mécanismes de résistance (Ruppé, 2010). Les entérobactéries produisant des BLSE forment aujourd’hui un problème de santé publique. Le problème s’est tellement aggravé à partir de 1995, où de «nouvelles souches» BLSE ont émergé de façon explosive chez les entérobactéries et la situation épidémiologique a complètement changé au niveau mondial (notamment CTX-M) (Canton & Coque, 2006). En effet, la plupart des souches productrices de BLSE sont maintenant des souches d’*E. coli* exprimant le type CTX-M responsables d’infections communautaires, surtout urinaires (Moubareck *et al.*, 2005).

TABLEAU 3

La Sensibilité des Différents Isolats Bacilles à Gram Négatif Entérobactéries

Bactéries	Antibiotiques																							Mécanisme de résistance
	Ampicilline	Céfalotine	Céftaxime	Céftazidime	Amoxiclave	Aztréonam	Ticaracilline	Céfturoxime	Céfépime	Céfoxime	Piper/Tazo	Pipéracilline	Imipénème	Céfixime	Gentamicine	Amikacine	Colistine	Tétracycline	Ac. nalidixique	Ofloxacine	Ciprofloxacine	Co-Trimoxazole		
<i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	BLSE ^a
<i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	I	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	BLSE
<i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	BLSE
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	BLSE
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	BLSE
<i>Rhanelia aquatilis</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	BLSE
<i>Rhanelia aquatilis</i>	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Case HN ^b
<i>Pantoea agglomerans</i>	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	Case BN ^c
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	R	Case HP ^d
<i>Serratia odorifera</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	Case HP
<i>Hafnia alvei</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	Case HP

a, bêta-lactamases à spectre étendu; b, pénicillinase haut niveau; c, céphalosporinase bas niveau; d, céphalosporinase hyperproduite.

R = résistante ; S = sensible ; I = indéterminée ; - = non testée.

La détection de très nombreuses entérobactéries résistantes aux antibiotiques dans les échantillons de fromage testés serait certainement causée par l’utilisation des antibiotiques dans le régime alimentaire des animaux. Une étude réalisée au Liban sur la contamination des produits laitiers par les antibiotiques a montré la présence des résidus d’antibiotiques dans 17% des échantillons de lait, fromages, laits fermentés, crèmes et beurres. (Hilan & Chemali, 1998).

La résistance croissante des bactéries pathogènes aux agents antibactériens soulève, à travers le monde, le problème de l'utilisation de plus en plus répandue de ces agents dans la production animale, pouvant générer le développement de bactéries résistantes ou de gènes de résistance qui peuvent être transférés à des bactéries qui causent des maladies à l'homme (Wegener *et al.*, 1997).

TABLEAU 4

La Sensibilité des Différents Isolats Bacilles à Gram Négatif Non-Entérobactéries

Bactéries \ Antibiotiques	Céfazidime	Aztréonam	Ticarcilline	Céfépime	Pipér/Tazo	Pipéracilline	Imipénème	Gentamicine	Amikacine	Colistine	Tétracycline	Ac. nalidixique	Ofloxacin	Ciprofloxacine	Co-Trimoxazole
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	I	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	I	S	S	S
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	I	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	I	I	R	R	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R
<i>Burkholderia cepacia</i>	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	-	R	S	S	-
<i>Burkholderia cepacia</i>	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	-	R	S	S	-
<i>Burkholderia cepacia</i>	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S	-	R	S	S	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I	I	R	R	S	R	S	S	S	S	-	R	S	S	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	-	S	S	S	-
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	S	R	R	S	S	S	R	S	S	R	-	S	S	S	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	-	I	S	S	-

R = résistante ; S = sensible ; I = indéterminée ; - = non testée.

CONCLUSIONS

La sécurité alimentaire n'est assurée que si la responsabilité est partagée par tous les acteurs de la chaîne alimentaire, du professionnel au consommateur. Tout au long de la chaîne alimentaire, des procédures et mécanismes de contrôle doivent être implantés pour garantir que l'aliment qui arrive au consommateur est propre à la consommation et que les risques de contamination sont minimes.

Les résultats posent une réelle question sur la spécificité de la méthode mini-VIDAS dans la détection de *Salmonella spp* et de *L. monocytogenes* dans les aliments en routine et soulignent la nécessité de confirmer les résultats positifs par des méthodes bactériologiques conventionnelles, moléculaires ou sérologiques.

Les résultats concernant la présence des bactéries résistantes aux antibiotiques surtout celles qui sécrètent des BLSE dans les échantillons de fromages analysés révèlent un vrai problème pour la santé publique et doit attirer l'attention des responsables sur la nécessité de mettre en place des systèmes de contrôle adéquats dans le pays.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier l'association LAsER « Lebanese Association for Scientific Research » pour avoir financé ce travail.

RÉFÉRENCES

- AFNOR 1996. Validation (Nr BIO 12/3-03/96) du Kit VIDAS. *Listeria monocytogenes* (BioMérieux), France.
- AFNOR 2002. Validation (Nr BIO 12/10-09/02) du Kit VIDAS VIDAS *Salmonella* (BioMérieux), France.
- Bonardi, S., Lucidi, L., Paris, A., Brindani, F. 2001. Utilization of VIDAS-LMO method for search of *Listeria monocytogenes* in meat and dairy products. *Annali della Facolta di Medicina Veterinaria*, 21: 293-299.
- Bonnet, R., Cavallo, J.D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P., Dabernat, H., Drugeon, H., Dubreuil, L., Guery, B., Jarlier, V., Jehl, F., Lambert, T., Leclercq, R., Nicolas-Chanoine, M.H., Plesiat, P., Quentin, C., Rouveix, B., Soussy, C.J., Varon, E., Weber, P. 2010. Communiqué 2010, Comité de l'antibiogramme de la Société française de Microbiologie, Édition de janvier 2010.
- Canton, R., Coque, T.M. 2006. The CTX-M bêta-lactamase pandemic. *Curr. Opin. Microbiol.*, 9: 466-475.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention) 2011. National *Listeria* surveillance annual summary, 2009. Atlanta, Georgia, US Department of Health and Human Services.
- Corpet, D.E. 2000. Antibiotiques en agriculture et résistances bactériennes. In: Freney J, Renaud, F., Hanser, W., Bollet, C., eds., *Précis de bactériologie clinique*. Paris, Editions Eska.
- Courvalin, P., Soussy, C.J. 1996. Report of the Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2: 1-49.
- Decludt, B. 1996. Dangers liés à la présence d'*Escherichia coli* producteurs de vérotoxines dans les aliments. In: Lahellec C. Actualités en microbiologie des aliments. *Proc. colloque Société française de Microbiologie*, Mars, Paris, S.F.M.
- Dib, H., Hajj Semaan, E., Noureddine, Z. 2008. Caractéristiques chimiques et microbiologiques des fromages Libanais issus d'industries locales. *Lebanese Science Journal*, 9 : 37-46.
- Farber, J.M., Peterkin, P.I. 1991. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiol. Rev.*, 55 : 476-511.

- Glass, M.B., Popovic, T. 2005. Preliminary evaluation of the API 20NE and RapID NF plus systems for rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei*. *J. Clin. Microbiol.*, 43: 479 - 483.
- Hamze, M., Naja, M., Mallat, H. 2008. Analyses biologiques réalisées chez des travailleurs dans le secteur alimentaire au nord du Liban. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 14: 1425-1434.
- Hamze, M., Mallat, H., Hlais, S., Bodon, M. 2010. *Étude sur la prévalence de portage intestinal de bactéries multirésistantes chez des enfants admis à l'hôpital Nini au nord Liban*. 8ème Congrès national de la SFM, Palais des Congrès de Marseille, France.
- Hilan, C., Chemali, Z. 1998. La contamination des produits laitiers par les antibiotiques au Liban. *Annales de Recherche Scientifique*, 1: 267-275.
- Husson, M.O., Hamze, M., Verhille, S., Izard, D. 2000. *Pseudomonas* et *Burkholderia*. In: Freney J., Renoud, F., Hansen, W. et Bollet, C. *Précis de bactériologie clinique*. Editions Alexandre, La casagne (ESKA) Paris, France.
- Junco, T.T., Martin, M.G., Toledo, L.P., Gomez, P.L., Barrasa, J.L.M. 2001. Identification and antibiotic resistance of faecal enterococci isolated from water samples. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 203 : 363-368.
- Larsen, G.Y., Stull, T.L., Burns, J.L. 1993. Marked phenotypic variability in *Pseudomonas cepacia* isolated from a patient with cystic fibrosis. *J. Clin. Microbiol.*, 31: 788-792.
- Legrand, P., Fournier, G., Buré, A., Jarlier, V., Nicolas, M.H., Decré, D., Duval, J., Philippon, A. 1989. Detection of extended broad-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in four French hospitals. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 8: 527-529.
- Lévi, Y. 2006. Inquiétudes sur la présence d'antibiotiques et de bactéries antibiorésistantes dans les eaux. *Environnement, Risques & Santé*, 5: 261-265.
- Moubareck, C., Daoud, Z., Hakime, N.I., Hamze, M., Mangeney, N., Matta, H., Mokhbat, J.E., Rohban, R., Sarkis, D.K., Doucet-Populaire, F. 2005. Countrywide spread of community and hospital-acquired extended-spectrum lactamase (CTX-M-15)-Producing Enterobacteriaceae in Lebanon. *J. Clin. Microbiol.*, 43: 3309-3313.
- Papapetropoulou, M., Iliopoulou, J., Rodopoulou, G., Detorakis, J., Paniara, O. 1994. Occurrence and antibiotic resistance of *Pseudomonas* species isolated from drinking water in Southern Greece. *J. Chemoth.*, 6 : 111-6.
- Paterson, D.L., Bonomo, R.A. 2005. Extended spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18: 657-686.
- Robertson, W. 1995. Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. In : *Air intérieur et eau potable*, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval.
- Ruppé, E. 2010. Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*, 12 : 3-16.
- Sanders, P. 2001. Résistance aux antibiotiques en pratique vétérinaire, états des lieux et mesures de prévention. *Antibiotiques*, 3: 225-232.
- Sharp, J.C.M. 1987. Infections associated with milk and dairy products in Europe and North America, 1980-85. *Bulletin of the World Health Organization*, 65: 397-406.
- Vaz-Velho, M., Duarte, G., Gibbs, P. 2000. Evaluation of mini-VIDAS rapid test for detection of *Listeria monocytogenes* from production lines of fresh to cold-smoked fish. *Journal of Microbiological Methods*, 40: 147-151.

- Wegener, H.C., Bager, F., Aarestrup, F.M. 1997. Surveillance de la résistance antimicrobienne chez l'homme, dans les denrées alimentaires et le bétail au Danemark. *Euro Surveill.*, 2: 17-19.
- Young, H.K. 1993. Antimicrobial resistance spread in aquatic environments. *J. Antimicrobial Chemother.*, 31: 627-635.