



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

Les méthodes d'isolement et d'identification de *Yersinia enterocolitica*.

Préparé par : BELHADJ MOSTEFA Sonia.

Le : 19/11/2020

MERAHI Soundous.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mlle MEZIANI Meriem (Maître assistante A - UFM Constantine).

Rapporteur : Mme BOUZERAIB Latifa (Maître assistante A - UFM Constantine).

Examineur : Mr CHABBI Rabah (Maître assistante A - UFM Constantine).

*Année universitaire
2019- 2020*

Remerciements

Avant tous nos remerciements Dieu, Allah le tout puissant que l'aube du savoir à évacuer l'obscurité de l'ignorance et le soleil de la science a éclairé notre chemin, de nous avoir donné la force et le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

*Nous adressons notre remerciement dans un premier temps à madame : **BouzeraiB Latifa** pour sa patience ; sa disponibilité et ses judicieux conseils, son aide, ses orientations, ses encouragements, ses efforts et ses sacrifices ainsi pour sa bienveillance et ses qualités profondément humaines qui ont été remarquables.*

Nous remercions également :

*Mademoiselle « **MEZIANI Meriem** » : qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury.*

*Monsieur « **CHABBI Rabah** » d'avoir accepté d'apporter et d'examiner son jugement à ce travail.*

Aussi je tiens à remercier toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'accomplissement et à la réussite de ce mémoire.

MERCI A TOUS.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*A tous ceux qui me sont proches et chers spécialement à mes parents **Belhadj Mostefa Moncef** et **Fatima** pour leur immense soutien dans mes études et dans ma vie, leur confiance en moi, leur encouragement et leur amour.*

*A mes frères **Mehdi** et **Mohamed Mostefa** et mes deux chères sœurs **Abir** et **fyerouz** pour leur support continu et leurs aides.*

*Pour toute ma famille **Belhadj mostefa** et **Kride** spécialement mon oncle **Nouredaine** et sa femme **Nassima** veuillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien, encouragement et affection, j'espère que vous trouverez ici le témoignage de mes sentiments sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.*

*A mes chères cousines **Asma, Razzika, fyerouz, Souad, Asia, Linda** aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, votre joie et votre support me comblent de bonheur, que dieu le tout puissant vous garde, éclaire votre chemin et vous aide à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.*

*A mes voisines et voisins je mentionne particulièrement **Dalila, Sara, wafa, souhaïla** veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

*A tous mes amis spécialement mon binôme **soundous**, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passé ensemble veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

A tous ceux qui m'ont entourée :

Je tiens à les remercier pour l'aide spontanée et efficace qu'ils m'ont apporté.

Belhadj Mostefa. S

Dédicaces

Avant tout je tiens à remercier DIEU, le tout puissant de m'avoir donné suffisamment de courage et surtout de patience pour réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce travail accompagné d'un profond amour :

*A mon support dans ma vie, qui m'appris m'a supporté et ma dirigé vers la gloire mon père **MERAJI Ammar**.*

*A celle qui m'arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour incessible, à la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières ma mère **Samah**.*

A mes sœurs, mes fleurs dans cette vie pour leur grand amour et leur soutien.

*A mon unique frère **kais**.*

*A mon binôme **Sonia** pour son entente et sa sympathie.*

Et finalement, à tous ceux que j'aime.

***MERAJI Soundous**.*

"L'important est de ne pas arrêter de remettre en question"

Albert Einstein.

Résumé

Y. enterocolitica appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, les caractères d'orientation rapide pour *Y. enterocolitica* sont : uréase+ très rapide, citrate -, ODC+, TDA-. *Y. enterocolitica* est constituée d'un groupe de souches hétérogène biochimiquement repartis en six biotypes et sérologiquement plus de 70 sérogroupe.

Notre travail présente les différentes techniques d'isolement et d'identification phénotypique de *Y. enterocolitica* dans le but de caractériser cette bactérie sur le plan morphologique, physiologique et biochimique et de réaliser un profil de résistance vis-à-vis des antibiotiques couramment utilisés.

Y. enterocolitica possède des caractères culturels particuliers qui rendent parfois son isolement difficile à partir d'un échantillon polymicrobien. Les difficultés liées à l'isolement de *Y. enterocolitica* proviennent de la flore associée, présente en grand nombre dans les échantillons. Différentes méthodes sont disponibles pour l'isolement.

Des méthodes alternatives de détection ont été proposées comme les méthodes de biologie moléculaire ou immunologiques sont des moyens utilisés pour quantifier les bactéries dans les milieux naturels et dans les aliments, offrent ainsi une alternative fiable et en pleine expansion pour l'énumération des bactéries quand la bactérie n'a pu être isolée, mais peuvent présenter des inconvénients car elles sont coûteuses et prennent du temps.

Y. enterocolitica est résistante aux bêta-lactamines excepté les céphalosporines de troisième génération, les antibiotiques les plus actifs sont les fluoroquinolones, les tétracyclines, les aminosides, les sulfamides et le cotrimoxazole.

Mots clés : *Y. enterocolitica*, isolement, identification, méthodes d'études.

Abstract

Y. enterocolitica belongs to the *Enterobacteriaceae* family, the quick orientation characters for *Y. enterocolitica* are: urease + very fast, citrate -, ODC +, TDA-. *Y. enterocolitica* is made up of a group of biochemically heterogeneous strains divided into six biotypes and serologically more than 70 serogroups.

Our work presents the different techniques for the isolation and phenotypic identification of *Y. enterocolitica* in order to characterize this bacterium on the morphological, physiologically and biochemically and to establish a resistance profile to commonly used antibiotics.

Y. enterocolitica has specific cultural characteristics that sometimes make it difficult to isolate from a polymicrobial sample. The difficulties related to the isolation of *Y. enterocolitica* arise from the associated flora, present in large numbers in the samples. Different methods are available for isolation.

Alternative detection methods have been proposed such as molecular biology or immunological methods. These are means used to quantify bacteria in natural environments and in food, thus offer a reliable and expanding alternative for listing bacteria when the bacterium could not be isolated, but may present disadvantages, as they are costly and time-consuming.

Y. enterocolitica is resistant to beta-lactam except cephalosporins of the third generation; the most active antibiotics are fluoroquinolones, tetracyclines, aminosides, sulfamides and cotrimoxazole.

Keywords: *Y. enterocolitica*, isolation, identification, study methods.

ملخص

Yersinia enterocolitica تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae ، الخصائص السريعة لوصفها هي :
Uréase+ très rapide ، - citrate ، + ODC ، -TDA . تتكون هذه البكتيريا من مجموعة من السلالات الغير متجانسة
كيميائيا والمقسمة الى ستة أنماط حيوية وأكثر من 70 مجموعة مصلية.
يعتمد عملنا على دراسة التقنيات المختلفة لعزل وتحديد النمط الظاهري ل *Yersinia enterocolitica* حيث يهدف الى
دراسة خصائص هذه البكتيريا المورفولوجية، الفيزيولوجية والبيوكيميائية وتحديد مدى مقاومتها للمضادات الحيوية شائعة
الاستخدام.
Y. enterocolitica تتميز بخصائص زرع معينة و التي تجعل عزلها صعب من عينات متعددة البكتيريا. صعوبة عزل هذه
البكتيريا تكمن في تواجد عدد كبير من السلالات الأخرى البكتيرية في العينات.
تم اقتراح طرق كشف بديلة مثل البيولوجيا الجزيئية أو المناعية. تستخدم هذه التقنيات لتحديد كمية البكتيريا في الاوساط
الطبيعية وفي الأغذية وبالتالي تقدم بديلا موثوقا وسريعا لتعداد البكتيريا عندما يتعذر عزلها ولكن قد تكون لها عيوب كونها باهظة
الثمن وتستغرق وقتا طويلا.
Y. enterocolitica مقاومة لبينا لاكتام باستثناء السيفالوسبورينات من الجيل الثالث ، وأكثر المضادات الحيوية فعالية هي
الفلوروكينولونات والتتراسيكلين والأمينوسيدات والسلفاميدات والكوتريموكسازول .

الكلمات المفتاحية : *Yersinia enterocolitica* ، عزل، وصف، تقنيات الدراسة.

Table des matières

Liste des abréviations	i
Listes des tableaux	iv
Listes des figures	v
Introduction	1
Synthèse bibliographique	3
Chapitre 1 : Les Entérobactéries	4
1. Définition et quelques caractéristiques principales	4
Chapitre 2 : Le genre <i>Yersinia</i>	8
1. Historique	8
2. Définition	9
3. Habitat	9
4. Les caractères bactériologiques	10
4.1 Caractères cultureux	10
5. Caractères biochimiques	10
Chapitre 3 : <i>Yersinia enterocolitica</i>	12
1. Définition	12
2. Classification de la bactérie	13
3. Habitat	13
4. Caractères bactériologiques	13
4.1 Caractères cultureux, croissance et métabolisme	13
4.2 Facteurs de développement	14
4.2.1 Température	14
4.2.2 Type respiratoire	14
4.2.3 pH	15
4.2.4 Activité d'eau	15
5. Caractères biochimiques	15
6. Caractères antigéniques	16
6.1 L'antigène somatique O	16
6.2 L'antigène flagellaire H	17
7. Physiopathologie et facteurs de virulence	17
8. Manifestations cliniques	19
9. Traitement	20

Chapitre 4 : Techniques d'isolement et identification de <i>Yersinia enterocolitica</i>	21
1. Méthodes culturelles	21
1.1 Enrichissement	21
1.1.1 Enrichissement au froid.....	21
1.1.2 Enrichissement sélectif.....	22
1.2 Isolement	23
1.3 Identification	27
2. Méthodes chimiques.....	27
3. Méthodes immunologique.....	28
3.1 L'agglutination du latex.....	28
3.2 Séparation immunomagnétique (IMS)	28
3.3 ELISA	29
3.4 la résonance plasmonique de surface (SPR)	29
4. Méthodes moléculaires.....	30
4.1 L'hybridation de colonies.....	30
4.2 L'électrophorèse sur gel à champ pulsé (PFGE)	30
4.3 PCR	30
4.4 PCR multiplex	31
4.5 Test de réaction en chaîne par polymérase (PCR)	31
4.6 PCR nichée.....	32
4.7 PCR quantitative (qPCR)	32
4.8 PCR en temps réel	32
4.9 Les puces à ADN.....	33
4.10 L'amplification isotherme à médiation de boucle (LAMP).....	33
4.11 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) et la spectrométrie de masse à temps de vol par désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI-TOF-MS)	34
Chapitre 5 : Résistance aux antibiotiques	35
1. Types de résistance aux antibiotiques	35
1.1 La résistance naturelle	35
1.2 La résistance acquise	35
1.3. La résistance croisée.....	35
2. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques	36
2.1 Mécanismes biochimiques	36
2.2 Mécanisme génétique	36

3. Tests de sensibilité des souches bactérienne aux antibiotiques.....	37
3.1. Antibiogramme.....	37
Conclusion et perspectives	40
Références bibliographiques	43
Annexe	vi

Liste des abréviations

Ail : attachment and invasion locus.

API : Appareillage et procédé d'identification.

Aw: Activity of water.

BA : Blood Agar.

BHI : Brain Heart infusion.

BOS : Bile-Oxalate-Sorbose.

BT: Biotype

CAL: Cellobiose-Arginine-Lysine.

CAY : CHROMagar *Yersinia*..

Cellule M : Microflod cells.

CIN : Cefsulodine-Irgasan-Novobiocine.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CR-MOX : Congo Red and Magnesium Oxalate.

CTAB : Cetyltrimethylammonium bromide.

DCL : Désoxycholate-Citrate-Lactose.

DIANA: Detection of immobilized nucleic acids.

EBL : Enteric Bacteria Laboratory.

ECA : Enterobacterial Common Antigène.

FDA : Food and Drug Administration .

FT-IR : Fourier transform infrared spectroscopy.

GC% : Rapport Guanine- Cytosine (en %).

gyrB : Gyrase B.

HLA-B27: Human leucocyte antigen B27.

HPI : High-Pathogenicity Island.

I : Intermédiaire.

ICCD : Intensified charge-coupled device.

IMS : Immunomagnetic separation.

Inv : Invasine

ITC : Irgasan Ticarcillin Chlorate Broth.

KCN : Cynure de potassium.

KOH : Hydroxyde de potassium.

LAMP : l'amplification Isotherme Médiée par les boucles.

LB-BSI : Luria-Bertani-Bile Salts-Irgasan.

LPS: Lipopolysaccharide.

MAC : Mac Conkey.

MALDI-TOF-MS : Martrix-assisted laser desorption / ionization mass spectrometry.

MRB : Modified Rappaport broth.

MY: Malt Yeast agar.

Myf : mucoide *Yersinia* factor.

Nacl : Chlorure de Sodium.

ODC : Ornithine Décarboxylase.

OMS : Organisation Mondiale de Santé .

ONPG: Ortho-nitrophényl- β -galactoside.

PBS : Phosphate Buffer Saline.

PBSM : Phosphate Buffer Mannitol.

PBSSB :Phosphate Buffer Saline Bile Salts.

PCR : Polymerase chain reaction.

PDA : Phénylalanine Désaminase.

PFGE : Pulsed Field Gel Electrophoresis.

pH: potentielle d'Hydrogène.

PSTA :Pastone Saccharose Tris(hydroxyméthyl) Aminométhane.

pYV: Plasmid for *Yersinia* virulence.

Qpcr : quantitative Polymerase Chain Reaction

R : Résistante.

RM : Rouge de Méthyle.

RNA 16s : ribonucleic Acid 16s.

S: Sensible.

SPR : Surface Plasmon Resonance.

SS: Gélose *Salmonella-Shigella*.

SSDC : *Salmonella Shigella* Deoxycholate calcium agar.

ST : Entérotoxine thermostable.

T₃SS : The *Yersinia enterocolitica* type 3 secretion system.

TDA : Tryptophane Désaminase.

Test E : Test epsilon.

TSB : Tryptic Soy Broth.

UFC : Unité Formant Colonie.

Uree : Uréase.

VP : Vosges-Proskauer.

VYE : Virulent *Yersinia enterocolitica* agar.

XDL : Xylose-Lysine-Désoxycholate.

Y : *Yersinia* agar.

Yad : *Yersinia* adhesin.

YECA : *Yersinia Enterocolitica* Agar Selective

YeCM : *Yersinia enterocolitica* chromogenic media.

Yops : *Yersinia* outer membrane proteins.

YST : *Yersinia* Stable Toxine.

Listes des tableaux

Tableau 1 : Les principales réactions de diagnostic utilisées pour la distinction des principaux genres des <i>Entérobactéries</i>	6
Tableau 2 : Les caractères biochimiques de certaines espèces de <i>Yersinia</i>	11
Tableau 3 : Caractères différentiels des biotypes de <i>Y. enterocolitica</i> .	16

Listes des figures

Figure 1: Aspect des colonies de <i>Y. enterocolitica</i> sur milieu CIN après 24 heures d'incubation à 30°C.....	10
Figure 2: Observation microscopique de la morphologie de <i>Yersinia enterocolitica</i> (Coloration de Gram)	12
Figure 3 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	36
Figure 4 : Antibiogramme par diffusion aux β -lactamines de <i>Y. enterocolitica</i>	38
Figure 5 : Antibiogramme par diffusion des autres antibiotiques aminosides et quinolones.....	39

Introduction

Introduction

Les entérobactéries forment une vaste famille hétérogène de bacille à Gram négatif de taille de 0,6 à 3µm, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche, non sporulés et aérobies - anaérobies facultatifs, elle se compose d'environ 30 genres et 100 espèces cependant toutes ces bactéries ont en commun une localisation préférentielle du tube digestif de l'homme et des animaux soit comme des hôtes commensaux ou pathogènes causant des maladies de gravité très variable bien que d'autres espèces sont également présentes dans l'environnement [1][2].

Le genre *Yersinia* prend place parmi les *Enterobacteriaceae* en regroupant aujourd'hui 18 espèces dont trois sont pathogènes pour l'homme : *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica* [3].

Yersinia enterocolitica a été décrite pour la première fois en 1939, il s'agit d'une bactérie à Gram négatif, ubiquitaire en forme bacille ou coccobacille, aérobies-anaérobies facultatifs dont la mobilité dépend de la température et son activité uréasique est remarquable. Cette bactérie est responsable sur une maladie zoonotique la Yersiniose qui se manifeste par une diarrhée aiguë, une adénite mésentérique, une iléite terminale, une pseudo-appendicite et dans de rares cas, cela peut même provoquer une septicémie [4][5].

Dans certains pays, les infections à *Yersinia enterocolitica* ont dépassé les espèces de *Shigella* et *Salmonella* en tant que la cause la plus fréquente des gastro-entérites bactériennes. Cette augmentation est dû à la consommation des aliments réfrigérés contaminés. La caractéristique clé de *Y. enterocolitica* est que l'individu continuera à excréter ce microorganisme dans les selles même après trois mois de la disparition des symptômes de l'infection ce qui rend sa détection à partir des selles essentielles [5].

L'isolement de *Y. enterocolitica* des selles est fastidieux, car il est souvent masqué par d'autres entérobactéries. Des milieux partiellement sélectifs contenant des agents antimicrobiens ont été proposés pour faciliter la récupération de *Y. enterocolitica* à partir d'échantillons fécaux comme la gélose CIN, CAI, MY, Mac Conkey et SS [6][7][8].

La méconnaissance de *Y. enterocolitica* par de nombreux bactériologistes et sa rareté dans certaines régions du monde et même en Algérie, nous a conduit à la croyance répandue que ce microorganisme ne peut être isolé d'une flore mixte que sur des milieux spéciaux avec des températures basses et des périodes d'incubation prolongés [9][10].

Ce travail a pour objectifs les points suivants :

- L'étude des différentes méthodes de diagnostic de *Y. enterocolitica*.
- L'évaluation de l'efficacité des méthodes d'isolement de *Y. enterocolitica*.
- La détermination de la résistance vis-à-vis les antibiotiques couramment utilisés.

Ainsi, ce manuscrit s'articule autour de deux parties présentées comme suit :

✓ La première partie présentera une synthèse des éléments nécessaires pour appréhender *Yersinia enterocolitica*. Nous faisons également le point sur les différentes techniques classiques et récemment décrites pour l'isolement de *Yersinia enterocolitica*.

✓ La deuxième partie dans laquelle nous adoptons l'ensemble des méthodes d'études et de diagnostic pour l'identification de cette bactérie. Nous terminerons ce travail par une conclusion et des perspectives de recherche.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1 : Les Entérobactéries

1. Définition et quelques caractéristiques principales

Les entérobactéries correspondent à un groupe relativement homogène au niveau phylogénétique parmi les gamma protéobactéries, elles ont une composition caractéristique des bases constituant leur ADN (GC% compris généralement entre 50% et 60%), ce qui permet de les différencier des *Pseudomonadaceae* et des *vibrionaceae* [11][12].

Les *Enterobacteriaceae* sont des bacilles à Gram négatif, le plus souvent courts (3 à 0,6 µm), droits, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, cultivent sur des milieux ordinaires (18-24 heures à une température de 37 °C et un pH neutre) ; oxydase négative et catalase positive [13][14].

L'ensemble des espèces fermentent le glucose avec ou sans production de gaz ; possèdent une nitrate réductase : réduction de nitrate en nitrite (à l'exception de certaines souches d'*Erwinia*) [2].

Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis comme la fermentation des différents sucres, la production ou non des sulfures, la production d'indole, la production d'uréase, la présence ou absence d'enzyme du métabolisme (désaminase, décarboxylase) ...etc [15].

Leur principale particularité commune est d'être présente dans la flore digestive de l'homme et des animaux dont la plupart comme des hôtes commensaux, sont très répandus dans la nature puisqu'on les retrouve chez les végétaux en tant que des parasites causent des nécroses, une dégénérescence ou un ramollissement et dans l'environnement (sol, eau) en raison de sa contamination par la matière fécale animales ou des eaux égouts [12][14][16].

Certaines entérobactéries participent au cycle naturel de dégradation de matière organique ; d'autres peuvent coloniser et dégrader les produits agroalimentaires ; ou encore provoquant des maladies parfois graves chez l'homme et animale [16].

Les entérobactéries sont bien connues en vue immunologique par leurs principaux antigènes appartiennent à divers groupes : antigène somatique O, antigène flagellaire H, antigène de surface (ou capsulaires) K, VI ou R cependant la plupart des espèces possèdent un antigène commun couramment appelé antigène de kunitz ou ECA (Enterobacterial Common Antigène) [14][17][18].

Les principales réactions de diagnostic utilisées pour la distinction des principaux genres des Entérobactéries sont représentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les principales réactions de diagnostic utilisées pour la distinction des principaux genres des *Entérobactéries* [19].

Genre	H ₂ S	Uréase	VP	Indole	Mobilité	Gaz sur glucose	B-Galactosidase	KCN	Citrate	Utilisation du mucate	Rouge de méthyle	Utilisation De tartrate	Alanine Désaminase	ADN(G+C%)
<i>Escherichia</i>	-	-	-	+	+/-	+	+	-	-	+	+	+	-	48-52
<i>Enterobacter</i>	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	52-60
<i>Shigella</i>	-	-	-	+/-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-	50
<i>Edwardsiella</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+/-	-	-	53-59
<i>Salmonella</i>	+	-	-	-	+	+	+/-	-	+/-	+/-	+	+/-	-	50-53
<i>Klebsiella</i>	-	+	+/-	-	-	+	+	+	+	+	-	+/-	-	53-58
<i>Citrobacter</i>	+/-	-	-	-	+	+	+	+/-	+	+	+	+	-	50-52
<i>Proteus</i>	+/-	+	-	+/-	+	+/-	-	+	+/-	-	+	+	+	38-41
<i>Providencia</i>	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	39-42
<i>Yersinia</i>	-	+	-	-	+ ^c	-	+	-	-	-	+	-	-	46-50
<i>Hafnia</i>	-	-	+	-	+	+	+/-	+	+	-	+	-	-	46-49

°Mobile à température ambiante, immobile à 37°C.

(+) : Résultat positif.

(-) : Résultat négatif.

+/- : Variable.

Chapitre 2 : Le genre *Yersinia*

1. Historique

Le genre *Yersinia* avait été proposé par le bactériologiste français Alexander Yersin, qui isola le bacille de la peste en 1894 lors d'une endémie à Hong-Kong [20].

Le genre *Yersinia* n'a été officialisé qu'en 1974 après le démembrement de genre *Pasteurella* [2].

Y. pseudotuberculosis fut décrite pour la première fois en 1883 par Louis –Charles Malassez et William Vignal. Au cours de temps, cette bactérie reçut de nombreux noms : *Bacille de tuberculose zoologique* (1883) *Pasteurella pseudotuberculosis* (1936) jusqu'à en 1974 où elle obtient son nom actuel.

Yersinia enterocolitica fut décrite pour la première fois en 1943 aux États-Unis par McIver et Picke comme une probable nouvelle espèce sous le nom de *Flavobacterium pseudomallei whitmore*.

En 1939 et à partir de cette isolat, Schleifstein et Coleman décrivent cette bactérie comme proche de *Pasteurella pseudotuberculosis* (ancien nom de *Y. pseudotuberculosis*) et ils la nommèrent dès 1943 *Bacterium enterocoliticum*. Elle fut également isolée en Europe une dizaine d'années après. De nombreux noms lui furent attribués : *Pasteurella pseudotuberculosis type b*, *Pasteurella X*, *Pasteurella Y*, *Genre X* et enfin Frederiksen en 1964 propose le nom d'espèce *Yersinia enterocolitica*.

Il est apparu plus tard que de nombreuses espèces apparentées à *Y. enterocolitica* étaient des espèces de *Yersinia* environnementales différentes et non pathogènes.

En 1967, survient une première pandémie de yersiniose dans cinq écoles de New York. Après avoir consommé du lait chocolaté, 222 enfants et employés tombent malades. La contamination est vraisemblablement due au sirop de chocolat contaminé par *Y. enterocolitica* O:8 ajouté au lait pasteurisé, cette pandémie conduit à une véritable prise de conscience de l'importance de cette bactérie en pathologie [21][22][23].

2. Définition

Le genre *Yersinia* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui appartient à l'embranchement de *Proteobacteria* et à la famille des *Enterobacteriaceae* et comprend une dizaine d'espèces ubiquitaires [24].

Les *Yersinia* sont des bacilles droits, parfois coccobacillaires, à Gram négatif, de 0.5-0.8µm de diamètre et 1-3µm de longueur ; immobiles à 37°C, mais mobile par une ciliature péritriche lorsqu'ils sont cultivés à une température au-dessous de 30°C, à l'exception de certaines souches *Y. ruckeri* et *Y. pestis* qui sont toujours immobiles [24][25].

Aéro-anaérobies facultatifs et chimioorganotrophes capables de se multiplier à basses et hautes températures (4 à 42°C), cependant la température optimale de leur croissance est de (28 à 30°C), croissent à un pH compris entre 5 et 9,6 et un le temps de génération est autour de 2 heures [21] [25] [26].

Le D-Glucose et d'autres glucides sont catabolisés avec la production d'acide, avec peu ou pas de gaz, la plupart des espèces produisant une uréase très active (base d'identification) mais pas de tryptophane désaminase à l'inverse de genre *Proteus* [25][27].

Ce genre actuellement est reparti en 18 espèces dont trois sont pathogène pour l'homme et animal : *Y. pestis* est l'agent de la peste ; *Y. enterocolitica* ; *Y. pseudotuberculosis* responsables à des infections entériques ; *Y. wautersii* est la dernière espèce décrite et serait potentiellement pathogène pour l'homme. *Y. ruckeri* est un pathogène important des poissons, en particulier des salmonidés, responsables de maladie entérique de la bouche rouge [21].

3. Habitat

Les bactéries du genre *Yersinia* ont une vaste distribution peuvent être isolées du l'environnement (sol, eau) ; sur les végétaux ; ainsi que le tube digestif ou la déjection des animaux ou humains malades ou porteurs sains. Les germes peuvent se propager à partir des carcasses ou cadavres [28].

Ses principaux réservoirs sont les animaux (les carnivores de compagnie, les oiseaux, le porc, les moutons, les rats etc..) et occasionnellement l'homme soit par contact avec les personnes ou des animaux infectés ou par ingestion de l'eau et des aliments contaminés par la matière fécale [2][29].

4. Les caractères bactériologiques

4.1 Caractères cultureux

Les *Yersinia* poussent à 28°C sur milieux ordinaires en petite colonies fines [30].

Le milieu sélectif pour *Yersinia* est CIN (cefsulodine-irgasan novobiocine). Après 18-24 heures à une température 25-30°C, les colonies sont petites de (0.5 mm) de diamètre à centre rouge entouré d'une zone translucide et un contour irrégulier dite (œil de bœuf). Pour atteindre 2 à 3mm en 48 heures (figure1) ; cet aspect morphologique est caractéristique de genre *Yersinia*.

Certaines souches de *Y. pseudotuberculosis* ne poussent pas sur CIN [24][31][32].

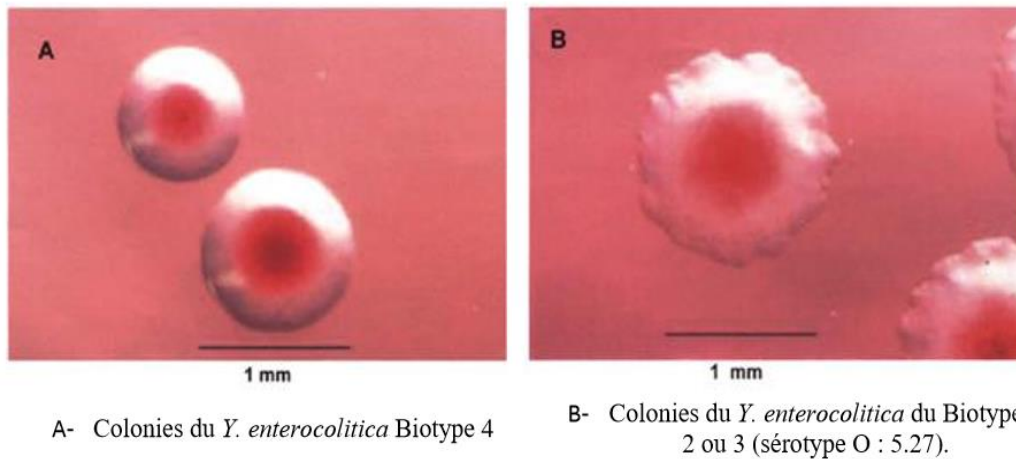


Figure 1: Aspect des colonies de *Y. enterocolitica* sur milieu CIN après 24 heures d'incubation à 30°C [33].

5. Caractères biochimiques

Les caractères d'identification des différentes espèces de *Yersinia* sont essentiellement « biochimiques » (tableau 2), et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou fermentation des sucres, la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylase, désaminase), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz [29].

Tableau 2 : Les caractères biochimiques de certaines espèces de *Yersinia* [3].

Caractères	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Sorbose	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
D-Xylose	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
Esculine	-	+	-	-	-	-	+	+	-	(+)	-	-	-	+
Salicine	-	+	-	(+)	(+)	-	+	(+)	-	(+)	+	(+)	-	+
Cellobiose	+	+	-	+	+	-	+	-	(+)	+	+	+	+	+
Lactose	+	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	(+)	+	-	+	-
Raffinose	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycérol	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Citrate	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Inositol	-	+	-	-	-	+	+	-	-	(+)	(+)	(+)	-	+
Sorbitol	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+
Mélibiose	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	(+)
L-Arabinose	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
L'hydrolyse de l'urée	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Lysine décarboxylase	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornithine décarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Voges-proskauer	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
La production d'Indole	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+

Les espèces : 1, *Y. entomophaga* ; 2, *Y. intermedia* ; 3, *Y. ruckeri* ; 4, *Y. bercovieri* ; 5, *Y. rohdei* ; 6, *Y. aldovae* ; 7, *Y. fredriksnii* ; 8, *Y. similis* ; 9, *Y. nurmii* ; 10, *Y. mollaretii* ; 11, *Y. krestensenii* ; 12, *Y. alekciaiae* ; 13, *Y. pekkanenii* ; 14, *Y. massiliensis*.

+ : positive.

- : négative.

(+) : faiblement positive.

(-) : faiblement négative.

Chapitre 3 : *Yersinia enterocolitica*

Y. enterocolitica, s'imposa en 1962, par la vague épizootique qui détruisit les élevages de chinchillas d'Europe occidentale. Elle atteignit ensuite les lièvres puis le porc. A partir de 1964, les cas humains apparaissent et les années suivantes, la liste des espèces atteinte et celle des pays infectés cessent de s'accroître. Par la suite, la découverte de souche gradées en collection, isolés aux états -unis dès 1939 ou en suisse 1949, montra qu'en fait cette espèce attendait seulement les conditions nécessaires à sa diffusion [2].

1. Définition

Y. enterocolitica appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, les caractères d'orientation rapide pour *Y. enterocolitica* sont : uréase+ très rapide, citrate -, ODC+, TDA-. *Y. enterocolitica* est constituée d'un groupe des souches hétérogène biochimiquement repartis en six biotypes et sérologiquement plus de 70 sérogroupes, cependant certains de ces sérogroupes ont été associés à des maladies humaines ou animales [34][35][36]. Cette bactérie est ubiquitaire a été isolés à partir du sol, des animaux, d'eau ou d'une variété des aliments causent des infections gastro-intestinales «Yersiniose» [37].

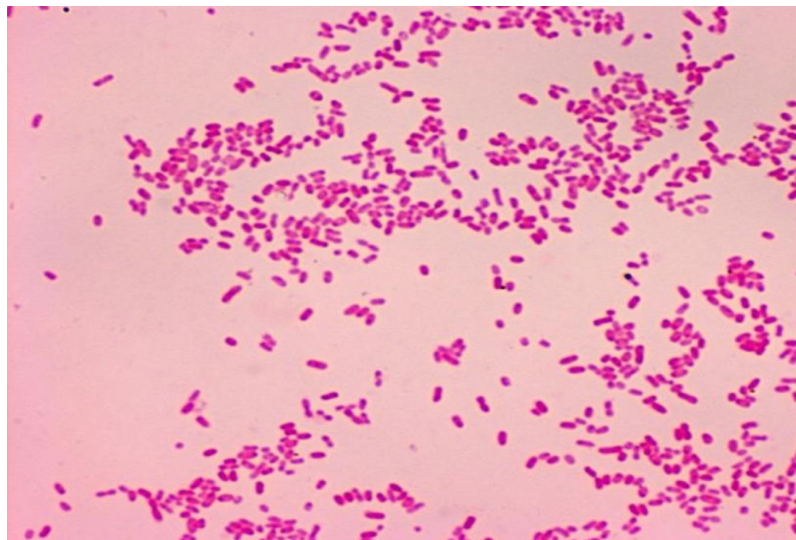


Figure 2: Observation microscopique de la morphologie de *Yersinia enterocolitica* (Coloration de Gram) [38].

2. Classification de la bactérie

D'après Frederiksen, 1964 *Yersinia enterocolitica* a été classé comme suit : [39]

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Proteobacteria*

Classe : *Gamma proteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Yersinia*

Espèce : *Yersinia enterocolitica*.

3. Habitat

Yersinia enterocolitica possède une distribution et un réservoir beaucoup plus vaste a été isolé d'environnement, du tube digestif des espèces animales (bovins, ovins, les chats, les chiens, le porc, les rongeurs...etc.) et dans une variété des aliments d'origine animale et végétale le lait, la viandes, les volailles, les crustacées ...etc [40][41][42].

Il exister des souches dites « adaptées » « pathogènes » ne sont rencontrées que dans les organismes hommes ou animaux malades ou porteur sains, de telles souches présentes dans les lésions ou les fèces, ne sont jamais rencontrées dans le milieu extérieur [43].

D'autre dites souches « non adaptées » « non pathogènes », au contraire sont largement répandus dans l'environnement (eaux, sols) et dans le tube digestif des micromammifères et les oiseaux [2].

4. Caractères bactériologiques

4.1 Caractères culturels, croissance et métabolisme

La culture peut être réalisée sur des milieux sélectifs comme : (Hektoen, gélose SS, DCL, Mac Conkey etc....), cependant le milieu CIN (cefsulodine, igrasan, novobiocine) est le plus performant, car il est capable de détecter des faibles quantités de *Y. enterocolitica* dans les selles. Après une période d'incubation de 24 à 48 heures à 22-32°C, *Y. enterocolitica* apparait sous forme de petite colonie à centre rouge [40][44].

Sur milieux solides usuels, *Y. enterocolitica* produit après 24 heures d'incubation à 37 °C des colonies très petites (moins de 1 mm de diamètre) qu'à 28°C, les colonies sont lisses translucides,

légèrement bleutés, à bords irrégulier, d'un diamètre de 1.5 mm, qui atteignent 3 mm de diamètre en 48 heures dont les bords deviennent plus réguliers et dont le centre s'élève légèrement.

En milieu liquide, la culture de *Y. enterocolitica* est peu abondante en 24 heures (léger trouble) mais si, en 48 heures, elle ressemble à celle des autres Entérobactéries (trouble avec ondes moins nettes), il n'y a pas de présence de dépôts floconneux comme ceux observés pour *Y. pestis* ou *Y. pseudotuberculosis*.

Les souches de *Y. enterocolitica* cultivent bien sur les milieux aux sels biliaires et notamment le milieu SS si l'incubation est réalisée à 28°C. La taille des colonies sur ces milieux est moitié moindre que sur gélose ordinaire.

Les souches *Y. enterocolitica* sont presque toutes prototrophes à 28°C et auxotrophes à 37 °C ou elles nécessitent l'apport de facteur de croissance (biotine et thiamine).

Les voies du métabolisme intermédiaire de *Y. enterocolitica* ont été étudiées mais devraient correspondre à celles d'autres Entérobactéries. Toutefois, contrairement à *Y. pestis* et *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* produit de l'actétoïne [2][4].

4.2 Facteurs de développement

4.2.1 Température

Y. enterocolitica est une bactérie psychotrope ; elle à la capacité de se multiplier à des températures ; allant de 0 à 44 °C, le temps de génération à la température optimale de croissance (environ 28-30 °C) est environ 34 minutes, cependant cette espèce peut se multiplier lentement à une température au-dessous de 0°C et -5°C. *Yersinia enterocolitica* résister à la congélation et à la décongélation car elle peut survivre dans les aliments congelés pendant plusieurs périodes prolongées, même après avoir répétés la congélation et la décongélation mais elle est sensible à la chaleur et est détruite par la pasteurisation à 71,8 °C pendant 18 secondes [37][45].

4.2.2 Type respiratoire

Aéro-anaérobie facultatives, les *Yersinia* ont un type respiratoire à la fois oxydatif et fermentatif. Le glucose et d'autres oses sont fermentés avec acidification, mais sans production de gaz ou presque [25][46].

4.2.3 pH

Y. enterocolitica est capable de se multiplier sur une échelle de pH allant d'environ 4 à 10 ; avec un pH optimal de 7,2, en cultivent en présence de 5% de NaCl [2][47].

4.2.4 Activité d'eau

Comme les autres bacilles à Gram négatif *Y. enterocolitica* est un microorganisme très hygrophile. L'Aw (Activity of water) minimale permettant sa croissance à température optimale est relativement haute : 0.96-0.97 [34].

5. Caractères biochimiques

Comme les autres espèces de *Yersinia*, *Y. enterocolitica* ne produit pas de gaz à partir des substrats carbonés acidifiés et ne fermentent pas le lactose (lactose-) [48].

Pour certains caractères biochimiques d'identification (les tests VP, β -galactosidase, ornithine décarboxylase, et fermentation des sucres sont généralement positifs à 20 ou 28°C est négatif à 37 °C) [33][49].

La production de H₂S et la culture sur citrate de Simmons sont négatives [50].

L'absence de lysine –décarboxylase, d'arginine –d'hydrolase, de phénylalanine-désaminase est constante [50].

Il existe quelques particularités dans certains tests biochimiques ; il a été signalé des rares souches uréase négative et l'activité d'ONPG-ase positive, ne correspondent pas à une β galactosidase [2][50].

L'hétérogénéité biochimique de *Yersinia enterocolitica* permet de définir 6 chimiotypes sur la base des caractères variables (production d'indole, fermentation du xylose, présence d'une lipase etc...) [51].

Les caractères différentiels des biotypes de *Yersinia enterocolitica* sont représentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Caractères différentiels des biotypes de *Y. enterocolitica* [52].

Biochemical test	Reaction of <i>Yersinia enterocolitica</i> including different biotype					
	1A	1B	2	3	4	5
Esculin hydrolysis	+	-	-	-	-	-
Inositol fermentation	+	+	+	+	+	+
Salicin fermentation	+	-	-	-	-	-
Sorbose fermentation	+	+	+	+	+	-
Trehalose fermentation	+	+	+	+	+	-
Ornithine decarboxylase activity	+	+	+	+	+	+
Lipase activity	+	+	-	-	-	-
Pyrazinamidase activity	+	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	-
Indole production	+	+	(+)	-	-	-
D-Xylose fermentation	+	+	+	+	-	s
Voges Proskauer reaction	+	+	+	+	+	(+)
β -D-Glucosidase	+	-	-	-	-	-
Proline peptidase	s	-	-	-	-	-
DNase	-	-	-	-	+	+

(+) : réaction faiblement positive ; s : réaction variable selon les souches ; + : réaction positive ;

- : réaction négative

6. Caractères antigéniques

La structure antigénique des *Yersinia* est complexe ; elles possèdent l'antigène communs des Entérobactéries ce qui permet d'inclure ce genre dans la famille des entérobactéries et certains antigènes sont des déterminants de virulence (fraction I d'antigène d'enveloppe, antigènes V et W) [40][43].

L'étude antigénique de *Yersinia enterocolitica* et des espèces voisines permet de caractériser plus de 78 antigènes O et plus de 48 antigènes H, qu'ils définissent plus de 75 sérogroupes utiles pour les études épidémiologiques [43][51].

6.1 L'antigène somatique O

Y. enterocolitica possède des antigènes de paroi, ou antigène somatique O qui correspondent aux polyosides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) constituent les endotoxines des bactéries Gram négatif [4].

Le lipopolysaccharide (LPS) est un constituant majeur de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, c'est une molécule complexe composé de trois segments : un lipide A ; un core qui est un oligosaccharide ramifié et une chaîne polysaccharidique qui est l'antigène O [53].

Le lipide A a une activité endotoxique et jouerait un rôle central dans la septicémie et le choc septique dus aux bactéries à Gram négatif [54].

Pensent que le core serait à l'origine de la résistance aux mécanismes de défense particulièrement ceux qui impliquent des peptides bactéricides [55].

Le rôle de l'antigène O n'est encore pas élucidé mais il est nécessaire à l'expression de virulence complète [53].

Les sérotypes O:3, O:8, O:9 et O:5,27 sont considérés comme des agents pathogènes humains [56].

Le sérotype O:9 a des parentés antigéniques avec les Brucelles et à un moindre titre avec le vibron cholérique, ce qui pose des problèmes de diagnostic sérologique dans les yersiniose s'exprimant cliniquement par des arthrites [2].

6.2 L'antigène flagellaire H

Les espèces mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle ou antigène H de nature protéique constitué de flagelline [2].

7. Physiopathologie et facteurs de virulence

Yersinia enterocolitica pénètre l'hôte par voie orale via des aliments contaminés ou d'eau. Après ingestion, les bactéries (10%) traversent l'estomac en produisant une uréase qui augmente le pH gastrique atteignent l'intestin grêle en particulier l'iléon terminale et le colon proximale s'associent au mucus intestinale puis envahissent la muqueuse via les cellules M, recouvrant les follicules lymphoïdes des plaques de Peyer dont les bactéries sont ingérées par les cellules mononucléées résidentes mais néanmoins, elles sont capables de survivre et de se multiplier dans le cytoplasme de ces phagocytes provoquant des granules inflammatoires évoluant vers la nécrose qui est à l'origine d'ulcération et d'hémorragies. Cette bactérie peut gagner les ganglions mésentériques et se propager par le sang aux organes tel que le foie et la rate [57][58][59].

Un plasmide de virulence pYV de 70Kb est présent dans toutes les souches pathogènes de *Y. enterocolitica* nécessaire à l'expression complète de virulence et qui code pour un système d'injection type 3 (T3SS), des protéines anti phagocytaires YopS, YadA qui constituent une protéine fimbriale de la membrane externe favorisant l'adhérence et invasion à la cellule hôte ; l'expression des gènes codants pour ses protéines sont régulées principalement par la température (37°C mais pas à 25°C) et la faible concentration en calcium [60][61][62].

Les facteurs bactériens impliqués dans le pouvoir pathogène sont également codés par le chromosome Invasine (Inv) qui est une protéine de la membrane externe (92KDa) requise pour le processus d'entrée initiale médiée par la liaison avec les intégrines $\beta 1$ de la surface de la cellule hôte ; Ail protéine de surface (17 KDa) qui participe à l'adhérence, invasion et dans la résistance sérique [57][63].

Y. enterocolitica produit une entérotoxine Yst de 7,5 KDa qui est stable à la chaleur (100 °C pendant 15 min) et reste active à une gamme de pH de 1–11 à 37 ° C pendant 4 heures, soluble dans le méthanol. Yst est structurellement et fonctionnellement homologue à l'entérotoxine thermostable (ST) de *Escherichia coli* entérotoxino-gène codé par le gène chromosomique *yst* ; l'entérotoxine Yst est responsable de la diarrhée [64].

Les souches pathogènes de *Y. enterocolitica* produisant une uréase est codée par le complexe génique ure (ureA, B, C, E, F, G et D) situé sur le chromosome ; Cette enzyme cytosolique catalyse l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone qui neutralise le pH gastrique permettant la survie de cette bactéries dans l'estomac, Le mécanisme de régulation de l'uréase a été montré uniquement pour *Y. enterocolitica*, l'uréase est de façon optimale active à pH acide, elle est exprimée au maximum à 28 ° C plutôt qu'à 37 ° C et elle n'est pas induite par la limitation de l'azote ou par l'urée [63][65][66].

Le lipopolysaccharide (LPS) est un constituant majeur de la membrane externe des bactéries à Gram négatif ; il est constitué de trois segments : le lipide A, un core ,un polysaccharide constituant l'antigène O dont le lipide A médie l'activité endotoxique ; le core serait à l'origine de la résistance aux mécanismes de défense particulièrement ceux qui impliquent des peptides bactéricides, l'antigène O présente des multiples fonctions physiologiques, il sert comme un récepteur pour bactériophages, il affecte les capacités d'invasion et de colonisation des bactéries et il joue un rôle dans la résistance de l'hôte à l'action du complément ; Skurnik et al (1996) ont montré que l'absence totale de l'antigène O chez *Y. enterocolitica* O :3 réduit la virulence chez un modèle des souris infectées [55][63][64].

Le facteur mucoïde *Yersinia* (antigène Myf) codé par le locus chromosomique myf est une structure fimbriale ressemble à celle de pilus qui favorise l'adhérence à la cellule hôte exprimé à 37°C dans des conditions acides [67][68].

Le fer est un facteur de croissance essentiel pour la plupart des bactéries est obtenu par la plupart des espèces grâce à la libération des chélateurs de haute affinité connus sous le nom de sidérophores. Le HPI chromosomique (îlot de haute pathogénicité) associée aux souches du biotype 1B/ O:8 de *Yersinia enterocolitica* code pour la synthèse, la régulation et le transport d'un chélateur du fer à haute affinité la yersiniabactine ; cependant les souches moins virulentes comme de biosérotype 4/ O:3 sont capables de se lier à des sidérophores exogènes, comme la ferroxamine et le ferrichrom, et de les internaliser [34][66][69].

8. Manifestations cliniques

En termes de pathogénèse, *Y. enterocolitica* est responsable d'une grande variété de manifestations cliniques.

Les symptômes les plus fréquemment rencontrés sont des diarrhées, de la fièvre et des douleurs abdominales. Cependant cette triade n'est pas toujours complète et il n'est cependant, pas rare qu'un seul de ces trois symptômes soit observé.

Les manifestations cliniques et leur degré de gravité sont étroitement liés à l'âge et à l'état générale du malade [33][70][71].

A notre connaissance, peu d'informations relatives à la dose infectieuse minimale sont publiées. Une dose infectieuse médiane de la yersiniose chez l'homme n'est pas connue, mais est susceptible de dépasser $4 \cdot 10^6$ unités logarithmiques formant des colonies (UFC) selon l'Agence de la santé publique du Canada. En général et selon Bhunia une dose élevée de sept à neuf cellules log de *Y. enterocolitica* est nécessaire pour provoquer la maladie. La durée des symptômes est de 3 à 28 jours [33][72].

Ces entérocolites sont généralement spontanément résolutive, mais des complications digestives à type de pseudo-appendicite, d'inflammation ou d'ulcérations diffuses de l'intestin grêle et / ou du colon ou de perforations intestinales sont parfois observées.

Dans de rare cas, une entérocolite nécrosante, généralement fatale, ou des formes pseudotumorales peuvent survenir.

Des complications auto-immunes secondaires à une yersiniose digestive sont relativement fréquentes.

La plus commune est la polyarthrite réactionnelle. Elle survient généralement une à deux semaines après le début de l'entérocolite et peut durer un à quatre mois. Elle touche les grosses articulations, le plus souvent de façon symétrique et est fortement associée à la présence de l'antigène du complexe majeur d'histocompatibilité HLA-B27.

Une autre complication secondaire non rare est l'érythème noueux [72][73].

D'autres manifestations comme un syndrome de fiessinger-leroy-reiter, une glomérulonéphrite ou une myocardite ont été considérées comme pouvant être une réaction secondaire à une yersiniose digestive.

Une forme rare mais gravissime d'infection est le choc septique post-transfusionnel [33].

9. Traitement

L'effet de la thérapie antimicrobienne sur l'issue d'une infection gastro-intestinale est incertain. Il a été recommandé de réserver les antibiotiques aux septicémies ou aux gastro-entérites prolongées et graves.

Les antibiotiques ne doivent être utilisés que chez certains patients tels que les personnes âgées, les personnes immunodéprimées ou les patients diabétiques.

La plupart des souches de *Y. enterocolitica* sont sensibles au triméthoprime-sulfaméthoxazole, aux aminoglycosides, à la pipéracilline, à l'imipénème, aux céphalosporines de troisième génération, à l'amoxicilline-clavulanate de potassium et au chloramphénicol, et sont résistantes à l'amoxicilline, à l'ampicilline, à la carbénicilline, à la ticarcilline et aux macrolides.

D'autres agents efficaces incluent la tétracycline (pas chez les enfants), les quinolones et les céphalosporines.

La thérapie dans des cas individuels doit être guidée par des tests de sensibilité *in vitro*, bien que le céfotaxime ait été utilisé avec succès chez des nourrissons bactériémiques [5][71].

Chapitre 4 : Techniques d'isolement et identification de *Yersinia enterocolitica*

La particularité de *Yersinia enterocolitica* à croître plus lentement que d'autres entérobactéries rend sa détection difficile à partir des aliments et d'un échantillon polymicrobien comme le cas des selles [74].

La source de *Y. enterocolitica* peut affecter considérablement les méthodes d'isolement. Il est généralement plus facile d'isoler cette bactérie à partir des échantillons cliniques que des porteurs asymptomatiques, des aliments ou des échantillons environnementaux [75][76].

Traditionnellement, des méthodes culturelles sont employées pour l'isolement et la détection de *Y. enterocolitica*, qui comprennent l'enrichissement à froid, l'ensemencement d'échantillons enrichis sur des milieux différentiels sélectifs et l'identification d'isolats présumés par des tests biochimiques.

Par la suite, de nombreuses techniques immunologiques et moléculaires ont été développées pour sa détection.

Actuellement, il n'existe aucune procédure unique qui semble optimale pour isolement de toutes les souches pathogènes de *Yersinia enterocolitica* [77].

1. Méthodes culturelles

1.1 Enrichissement

Plusieurs méthodes d'enrichissement ont été suggérées pour augmenter le taux de récupération de *Y. enterocolitica*.

Un enrichissement sur un milieu liquide est nécessaire avant l'isolement sur le milieu solide [48][77].

1.1.1 Enrichissement au froid

Yersinia enterocolitica est un microorganisme psychotrope capable de croître à la température de réfrigération (+4°C) à cette température pendant 2 à 4 semaines est largement utilisé. À cette basse température, le taux de croissance des bactéries compétitives est suffisamment ralenti pour permettre à la bactérie de se multiplier jusqu'au nombre nécessaire pour l'isolement [78].

Plus tard Eiss (1975) propose un enrichissement dans différentes solutions à 4°C pendant des périodes prolongées ; cet enrichissement consiste à incuber l'échantillon dans du PBS (phosphate buffer saline) (voir annexe 01) pH 7,6 + à 4 °C pendant 1- 3 semaines [76][79].

Plusieurs autres milieux sont développés pour améliorer l'isolement à froid de *Yersinia enterocolitica* ; Mehlman et al (1978) ont proposé la supplémentation de PBS avec 1% de sorbitol et 0,15% des sels biliaires (PBSSB), Schiemann et al (1979a) ont utilisé du PBS additionné de 1% de mannitol (PBSM) et pour l'enrichissement à froid des échantillons alimentaires Van Pee et Stragier (1979) ont suggéré un bouillon riche tel que le tryptone soja et l'eau peptonée tamponnée au tris, pH 8,0 [80][81].

L'avantage de l'enrichissement à froid est que cette technique permet l'isolement de toutes les souches pathogènes de *Yersinia enterocolitica* [76].

Les principaux inconvénients de l'enrichissement au froid est la longue période de 21 jours ; En 1983, Doyle et Hugdahl ont montré que l'incubation dans une solution de PBS pendant 1-3 jours à 25 °C est plus efficace que l'enrichissement à 4°C pendant plusieurs semaines [48][82].

En plus de la présence de *Yersinia* non pathogène et d'autres bactéries psychotropes qui se multiplient pendant l'enrichissement , on peut réduire cette flore par un traitement alcalin qui a été développé par Aulisio et al en 1980 ,en se basant sur l'alcalotolérance des *Yersinia spp* qui est beaucoup plus important que d'autres bactéries Gram négatif ; Cette méthode de traitement alcalin a été associé à d'autres méthodes pour faciliter l'isolement des *Yersinia* qui consiste à traiter les échantillons par KOH à 0.5 %, après incubation au froid à 4°C dans du PBS [45][83].

1.1.2 Enrichissement sélectif

Plusieurs autres procédures d'enrichissement, ont été proposées sur l'utilisation des milieux sélectifs contenant des agents discriminatoires incubés à haute température pendant des périodes plus courtes.

Wauters (1973) a formulé un bouillon de Rappaport modifié (MRB) contenant du chlorure de magnésium, vert malachite et carbénicilline, dans lequel l'échantillon a été incubé à 25 °C pendant 2 à 4 jours, utilisé pour la récupération du sérotype O:3.[81][84]

Plus tard Wautres et al (1988) ont développées un nouveau bouillon d'enrichissement dérivé du bouillon base de Rappaport modifiée (ITC) pour l'isolement spécifique de sérotype O:3 complété par de l'irgasan qui est un antiseptique non générique : le triclosan, actif sur les

champignons et les bactéries à Gram positif, de la ticarcilline comme la carbénicilline , une pénicilline, à large spectre et du chlorate de potassium.

Ces deux milieux sont très sélectifs des bio-sérotypes 4/O:3 et 2/O:9 de *Y. enterocolitica* à partir d'échantillons fécaux humains ; Cependant, ils peuvent inhiber les souches appartenant aux sérotypes O:8 et O:5,27.

En 1982, Schiemann a développé un milieu bile-oxalate-sorbose (BOS) pour l'isolement de *Y. enterocolitica*, en particulier pour les souches du biosérotype 1B / O:8 [34][81].

Puis d'autres milieux ont été proposés : le milieu sélénite modifié, utilisé pour la détection de *Y. enterocolitica* dans les viandes : le bouillon Caséine Soja modifié (TSB modifié) (voir annexe 01), pour la récupération de *Y. enterocolitica* dans les aliments prêts à consommer et la viande de porc et le bouillon irgasan- sels biliaires Luria-Bertani (LB-BSI) complété par de la céfulodine et de la novobiocine, pour la récupération efficace de *Y. enterocolitica* à 12 °C [82][85][86].

Pour l'isolement de *Yersinia enterocolitica* sur le milieu Hektoen, un milieu d'enrichissement plus sélectif a été utilisé, le PSTA se compose de pastone, saccharose, tris (hydroxyméthyl), aminométhane, vert brillant, azoture de sodium et d'ampicilline [48][87].

1.2 Isolement

Après le pré-enrichissement des échantillons, divers milieux sélectifs sont utilisés pour l'isolement de *Y. enterocolitica*, tels que :

1.2.1 Milieu Mac Conkey

La gélose Mac Conkey (voir annexe 01) est un milieu sélectif différentiel permet l'isolement des entérobactéries fermentent ou pas le lactose, elle contient les sels biliaires et le cristal violet des agents sélectifs des bactéries Gram positif.

En 1977 Lee a été modifié le milieu Mac Conkey par addition de tween 80 pour la différenciation des colonies de *Yersinia* des autres colonies lactose négative [88].

1.2.2 Milieu SS

La gélose SS (gélose *salmonella-shigella*) (voir annexe 01) est un milieu sélectif pour l'isolement et la différenciation des *Salmonella* et des *Shigella*, il contient les sels biliaires, le citrate de sodium et le vert brillant inhibent le développement bactéries à Gram positif.

Sur ce milieu *Yersinia enterocolitica* ne fermente pas le lactose, forme des colonies lisse et incolores après 48 heures à 30°C.

Le milieu *salmonella-shigella* au désoxycholate Calcium chloride (SSDC) est le milieu optimum pour l'isolement du biosérotype 4/O:3 de *Yersinia enterocolitica* à partir des aliments [81][89].

1.2.3 Milieu Hektoen

Gélose aux sels biliaires (voir annexe 01) permet l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes principalement *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia* grâce à la présence des trois sucres le lactose, le saccharose et la salicine [90].

1.2.4 CIN (cefsulodine – irgasan – novobiocine)

Le milieu CIN (voir annexe 01) est le plus largement utilisé pour la détection de *Y. enterocolitica* à partir des aliments et des selles à nos jours, en raison de sa composition : des sels biliaires, cristal violet, igrasan et les deux antibiotiques (cefsulodine et novobiocine) qui inhibent la croissance des bactéries à Gram positif et la plupart des bactéries à Gram négatif, tandis que *Y. enterocolitica* forme des colonies lisses à centre rouge dites « œil de bœuf ou œil de bison ».

L'inconvénient de l'isolement sur la gélose CIN est que d'autres membres des *Enterobacteriaceae* peuvent croître en produisant des colonies d'aspect assez similaire à *Y. enterocolitica*.

Une gélose CIN modifiée a été développée, ce qui permet une meilleure discrimination entre *Yersinia* et les colonies de type *Yersinia* formées sur gélose CIN [6][91].

1.2.5 Milieu CAL

La gélose CAL (cellobiose arginine lysine) (voir annexe 01) est un milieu différentiel utilisé pour l'isolement de *Yersinia enterocolitica* à partir des selles et de l'eau.

Sur ce milieu Après 36 heures à 25°C, *Yersinia enterocolitica* produit des colonies rouge ceci grâce à la fermentation du disaccharide la cellobiose et la décarboxylation de deux acides aminés lysine ou arginine [7].

1.2.6 Milieu MY

Milieu MY (voir annexe 01) est un milieu différentiel pour l'isolement de *Yersinia enterocolitica* à partir d'échantillons fécaux, se compose d'hydrolysate de caséine et de peptone servant de sources de carbone et d'énergie.

La haute sélectivité de ce milieu est grâce à sa teneur en oxalate de sodium et en sels biliaires dont l'oxalate inhibe la croissance des bactéries à Gram négatif, y compris les membres de la famille des *Enterobacteriaceae*, tandis que les sels biliaires inhibent la croissance des bactéries à Gram positif, la condition la plus optimale pour l'isolement de *Y. enterocolitica* à partir des selles dans ce milieu est d'incuber à 29°C pendant 48 heures. [8]

1.2.7 Milieu VYE

Un milieu sélectif pour l'isolement de *Yersinia enterocolitica* à partir des échantillons environnementaux ainsi que des échantillons cliniques.

La gélose VYE a fourni une récupération quantitative de 51 souches différentes de *Y. enterocolitica* virulentes à 32°C, après l'incubation pendant 24 heures.

Il contient la cefsulodine, l'irgasan, la josamycine et l'oleandomycine qui ont entraîné une sélectivité élevée et la teneur en mannitol et en esculine a fourni une certaine différenciation.

Le plus grand avantage de la gélose VYE est que *Y. enterocolitica*, qui forme des colonies rouges, se différencie facilement de la plupart des *Yersinia* environnementales et autres bactéries à Gram négatif, qui forment des colonies sombres avec une zone périphérique sombre à la suite d'hydrolyse de l'esculine [92].

1.2.8 Milieu bAbY4

La gélose bAbY4 est un milieu sélectif pour l'isolement de *Yersinia enterocolitica* à partir d'échantillons environnementaux ; il contient désoxycholate de sodium, chlorate de potassium, ; et les trois antibiotiques métronidazole ; amphotéricine B ; novobiocine qui inhibent les bactéries à Gram positif ainsi que les champignons et en particulier les entérobactéries possédant une nitrate réductase type A mais pas une nitrate réductase de type B, ce milieu est très sélectif pour *Yersinia enterocolitica* en tant que cette bactérie possède une nitrate réductase de type B et est capable de fermenter le sorbose [93].

De nos jours, les milieux chromogènes sont de plus en plus utilisés pour le diagnostic dans les laboratoires cliniques. Trois milieux chromogènes ont été développés pour *Y. enterocolitica* comprennent :

1.2.9 Milieu chromogène *Y. enterocolitica* (YeCM)

Le milieu chromogène *Y. enterocolitica* (YeCM), pour l'isolement de *Y. enterocolitica* potentiellement virulente.

Cette gélose contient du cellobiose sous forme de sucre fermentescible, un substrat chromogène et des inhibiteurs sélectifs pour la suppression de la formation de colonies de nombreuses bactéries concurrentes.

Toutes les souches de *Yersinia* potentiellement virulentes des biotypes 1B et des biotypes 2-5 ont formé sur YeCM des colonies convexes à œil de bœuf rouge très similaires à celles décrites pour la gélose CIN.

Cependant, *Y. enterocolitica* biotype 1A et d'autres *Yersinia* apparentées ont formé des colonies qui étaient violettes / bleues sur YeCM [94][95].

1.2.10 Milieu chromogène agar pour *Y. enterocolitica* (YECA)

YECA a été développé par AES Chemunex (Combourg, France) est décrit comme une plaque chromogène qui permet d'isoler *Yersinia enterocolitica* spécifiquement pathogène ; les colonies typiques sont petites et d'une couleur fuchsia rouge. Cette coloration est due à la présence d'indicateur de couleur révélé par la fermentation du sucre.

La présence de désoxycholate améliore la coloration fuchsia rouge des colonies pathogènes de *Y. enterocolitica*.

Le substrat chromogène et le tryptophane dans les milieux permettent la différenciation des souches pathogènes *Y. enterocolitica* des souches non pathogènes *Y. enterocolitica* (biotype 1A) et d'une majorité d'entérobactéries [96].

1.2.11 CHROMAgar *Yersinia* (CAY)

CHOMAgar *Yersinia* est un nouveau milieu chromogénique utilisé pour l'isolement et l'identification des souches pathogène de *Yersinia enterocolitica* ; Après 48 heures d'incubation à

28°C les colonies pathogènes de *Yersinia enterocolitica* apparaissent mauves tandis que les colonies de *Yersinia enterocolitica* non pathogènes ont une couleur bleu métallique.

Toutefois, ces milieux ne sont pas encore adaptés au dépistage systématique de *Y. enterocolitica* dans les aliments, car ils nécessitent des préparations de laboratoire coûteuses et à forte intensité de main-d'œuvre [77][97].

1.3 Identification

Après incubation, des isolats présumés de *Yersinia* peuvent être identifiés au niveau de l'espèce par une variété de tests biochimiques, comme la fermentation du saccharose, du L-rhamnose, de la raffinose et du mélibiose, et le test de Voges-Proskauer à 25 °C [98].

En outre, les méthodes basées sur la culture ne peuvent pas être adaptées à la détection à haut débit.

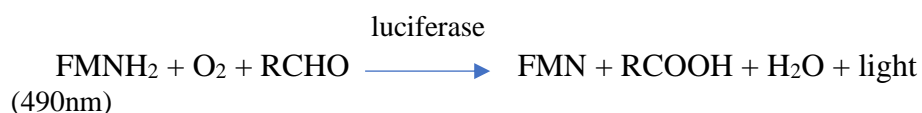
Les systèmes Biolog et API 20E fournissent des kits disponibles dans le commerce qui identifient et caractérisent les bactéries en fonction de leurs propriétés biochimiques. Cependant, l'exigence de bandes et d'équipements coûteux limite leur utilisation dans le cadre d'une détection régulière [81].

Différents tests phénotypiques, tels que la croissance calcique à 37 °C, la liaison au rouge Congo, l'auto-agglutination et l'activité de la pyrazinamidase, ont été utilisés pour évaluer le potentiel pathogène des souches isolées. Cependant, comme la plupart de ces tests dépendent de la présence du gène pYV, à l'exception de la pyrazinamidase, ils peuvent donner des résultats faussement négatifs [99][100].

2. Méthodes chimiques

La bioluminescence est une méthode alternative rapide non invasive qui consiste à surveiller les agents pathogènes dans les aliments.

Dans le cas de *Yersinia enterocolitica* la réaction de bioluminescence, catalysée par l'enzyme luciférase, implique l'oxydation d'un aldéhyde à longue chaîne et d'un phosphate de riboflavine réduit (FMNH₂) et se traduit par l'émission d'un feu bleu vert avec un pic à 490 nm.



La synthèse de la lumière est codée par cinq gènes essentiels qui sont organisés dans un opéron tel que luxCDABE. La sous-unité luxAB est codée pour la réaction de luciférase et les gènes codant pour la synthèse d'aldéhyde par un complexe d'acide gras réductase sont luxCDE.

La quantification de la bioluminescence en temps réel est faite par une caméra à dispositif à couplage de charge intensifié (ICCD), il est possible de déterminer la localisation de la *Yersinia* bioluminescente sur la surface de l'échantillon à analyser.

La quantification pour le dénombrement total de *Yersinia* bioluminescente est déterminée par ensemencement sur gélose CIN ou gélose BHI suivi d'une incubation 24 heures à 37 ° C et d'un comptage ultérieur des colonies bioluminescentes [101].

3. Méthodes immunologique

Les immunoessais permettent de détecter et d'identifier rapidement les microorganismes, sans qu'ils ont nécessaires de les cultiver. Différents formats d'immunoessais sont disponibles pour la détection de *Y. enterocolitica* :

3.1 L'agglutination du latex

Est le test immunologique le plus simple pour une détection rapide et précise, dans lequel des billes de latex revêtues d'anticorps spécifiques aux agents pathogènes sont utilisées pour agglutiner les antigènes afin de former un précipité visible.

Deux types de tests d'agglutination au latex ont été utilisés pour la détection de *Y. enterocolitica* :

➤ **Test d'agglutination sur lame (Progen) :**

Pour l'identification des sérotypes O:3 et O:9.

➤ **Test d'agglutination au latex sur carte (ANI Biotech Oy) :**

Pour les sérotypes O:3, O:6, ou O:9 [102].

3.2 Séparation immunomagnétique (IMS)

Est utilisée pour l'identification des agents pathogènes, car elle élimine l'étape d'enrichissement et réduit le temps de détection de 24 heures. Des billes magnétiques recouvertes d'anticorps sont utilisées pour séparer l'organisme cible d'une population mixte, et les isolats sont ensuite confirmés par un test immuno-enzymatique (ELISA) ou une réaction en chaîne par

polymérase (PCR). Dans une étude, *Y. enterocolitica* O:3 a été isolé sélectivement par IMS à partir d'échantillons d'aliments, et les isolats ont été confirmés par PCR nichée en utilisant des amorces spécifiques du gène *yadA* (*Yersinia adhesin*) [103][104].

3.3 ELISA

L'ELISA est le test antigène-anticorps le plus couramment utilisé pour la détection des agents pathogènes dans les aliments.

Il a été développé pour la détection de *Y. enterocolitica* à partir d'échantillons cliniques, environnementaux et alimentaires, avec une sensibilité de 10^4 à 10^7 UFC par ml.

Cette méthode est également utilisée pour différencier les souches pathogènes et non pathogènes sur la base des protéines pYV codées par *Y. enterocolitica*.

Ce test est spécifique à *Y. enterocolitica* O:3, O:5,27, O:8 et O:9 et ne présente aucune réactivité croisée avec des souches de *Y. enterocolitica* non pathogènes [105][106].

Cependant, le principal inconvénient est son incapacité à détecter les souches pathogènes dépourvues de pYV. L'ELISA utilisant des anticorps porcins contre les lipopolysaccharides présents sur la membrane externe peut être utilisée pour la détection de *Y. enterocolitica* associé à des infections humaines.

Un test ELISA chimioluminescent multiplexé en sandwich pour la détection de *Y. enterocolitica* dans les aliments a également été développé.

Des kits commerciaux qui détectent les antigènes O en utilisant des anticorps monoclonaux anti-O:3 et des anticorps O:9 de *Y. enterocolitica* sont également disponibles [107][108][109].

Actuellement, d'autres méthodes sont proposées :

3.4 la résonance plasmonique de surface (SPR)

Cette technique est utilisée pour évaluer les interactions antigène-anticorps ; Le principe consiste sur la fixation des anticorps immobilisés sur les déterminants antigéniques du surface de *Y. enterocolitica* et la quantification de complexe AC-Ag à l'aide d'un immunocapteur. Cette méthode pourrait détecter 10^2 à 10^7 UFC par ml de *Y. enterocolitica*.

Les tests directs d'antigènes donnent des résultats d'identification rapides et spécifiques ; toutefois, la spécificité de ces méthodes est limitée par la qualité des anticorps. Ces tests nécessitent

généralement une grande quantité d'antigènes dans les échantillons, ce qui nécessite une étape d'enrichissement avant le test, augmentant ainsi le temps de détection.

En outre, les méthodes immunologiques peuvent être influencées par les conditions de test in vitro et peuvent entraîner une mauvaise interprétation et une fausse identification [77][110].

4. Méthodes moléculaires

Les récents progrès des techniques moléculaires ont révolutionné la détection des agents pathogènes dans les aliments, car les micro-organismes peuvent être détectés sans avoir besoin de cultures pures [111].

Diverses techniques moléculaires rapides, économiques et précises ont été utilisées pour la détection de *Y. enterocolitica*, telles que :

4.1 L'hybridation de colonies

Plusieurs tests d'hybridation de colonies ont été développés pour la détection rapide et efficace de *Y. enterocolitica* dans les échantillons alimentaires et environnementaux.

Ces essais impliquent le sondage des séquences d'ADN liées à la virulence de la cible avec le génome de *Y. enterocolitica*. L'Hybridation de colonies (hybridation ADN-ADN) en utilisant une sonde oligonucléotidique produite par synthèse in vitro.

Les sondes les plus couramment utilisées pour la détection de *Y. enterocolitica* comprennent les gènes *ail*, *inv*, ou *yst* [112][113][114].

4.2 L'électrophorèse sur gel à champ pulsé (PFGE)

Est la plus utilisée de ces techniques pour la détection de *Y. enterocolitica*. De nombreuses études ont utilisé cette technique de typage et diverses enzymes de restriction ont été testées pour générer des profils de digestion.

De nombreuses études, par exemple, ont utilisé NotI et XbaI comme enzymes de restriction [115].

4.3 PCR

La plupart de ces tests PCR utilisent des gènes de virulence chromosomique, tels que *ail*, *inv* et *yst*, comme cibles pour *Y. enterocolitica*.

De nombreuses études ont montré l'incapacité d'un seul gène à détecter cet agent pathogène avec certitude ; il est donc impératif de sélectionner avec soin le gène ou la combinaison de gènes appropriés [116].

4.4 PCR multiplex

Elle amplifie plus de deux gènes de virulence dans une seule réaction PCR, a été utilisée pour l'identification de *Y. enterocolitica* dans les aliments.

Une PCR multiplex utilisant les amorces des gènes *rfbC* (gène codant pour l'antigène O), *inv*, *ail* et *virF* pour la détection spécifique du sérotype O:3 de *Y. enterocolitica* a été développée [117][118].

4.5 Un test de réaction en chaîne par polymérase (PCR)

A été développé pour la détection de souches virulentes pathogènes de *Yersinia enterocolitica*. En utilisant à la fois les locus de gènes de virulence *virF* et *ail* comme marqueurs de la pathogénicité, la détection d'espèces avec un facteur de virulence était possible.

La préparation d'ADN en présence de bromure d'hexadécyl triméthylammonium (CTAB) a été suivie de deux réactions d'amplification à 44 cycles, une pour chacun des marqueurs. Seulement 102 cellules *Y. enterocolitica* ont été détectées dans le porc haché en présence de 10^5 à 10^6 bactéries d'autres espèces [119].

Récemment, un schéma basé sur trois PCR a été développé pour l'identification et le sérotypage de *Y. enterocolitica*.

Dans ce schéma, la première PCR multiplex identifie *Y. enterocolitica* au niveau des espèces et sous-espèces en utilisant ARNr16S, *inv*, *ail* et *ystB* comme cibles.

La deuxième PCR nichée est utilisée pour différencier les sérotypes associés aux infections humaines à l'aide d'amorces spécifiques au sérotype, *rfbC/wbbU/wbcA/wzt*.

La troisième PCR différencie les souches O:5,27 pathogènes des souches O:5 non pathogènes par l'amplification d'une région du système de restriction-modification absente des souches O:5.

Ainsi, ce schéma basé sur le génotypage peut être adapté pour l'identification fiable de *Y. enterocolitica* virulent à partir d'échantillons [120].

4.6 PCR nichée

Combinée à la détection calorimétrique des gènes cibles, a également été utilisée pour la détection des souches pathogènes de *Y. enterocolitica* dans les aliments. Dans cette méthode, les échantillons d'aliments ont été soumis à l'IMS pour son isolement sélectif.

Ensuite, une PCR nichée en deux étapes a été réalisée avec des amorces spécifiques du gène *yadA* de *Y. enterocolitica*, suivie d'une détection avec une méthode de détection calorimétrique, DIANA (détection des acides nucléiques amplifiés immobilisés) [103].

4.7 PCR quantitative (qPCR)

Détecter les gènes de virulence de *Y. enterocolitica* dans des échantillons d'eau de surface. Il existe un certain nombre de gènes impliqués dans les voies de virulence de *Y. enterocolitica* comme le gène chromosomique *ail* et le gène *yadA* [121].

4.8 PCR en temps réel

Au potentiel de répondre à tous ces critères en combinant l'amplification et la détection en une seule étape de réaction.

Récemment, des méthodes PCR en temps réel ont été utilisées pour la détection de *Y. enterocolitica* pathogène dans les aliments, et elles utilisent des gènes liés à la virulence, en particulier *ail*.

Bien que les techniques de PCR présentent plusieurs avantages, des résultats faussement positifs sont souvent observés, car certains des marqueurs moléculaires (*ail*, *myf*, *yst*) utilisés pour la détection des souches pathogènes sont également présents dans les souches non pathogènes du biovar 1A de *Y. enterocolitica*.

Ainsi, des précautions spécifiques doivent être prises afin de réduire les faux positifs en incluant un nombre suffisant de contrôles négatifs et de prévenir la contamination croisée pendant la PCR.

Un autre inconvénient des méthodes PCR est leur incapacité à différencier les cellules viables et non viables ce problème est contourné en incluant une courte étape de pré-enrichissement avant la PCR. Une autre limite des essais PCR est la présence de substances inhibitrices dans les échantillons alimentaires et les milieux d'enrichissement.

Ainsi, le milieu d'enrichissement *Yersinia* compatible avec la PCR et la flottation, une modification de la centrifugation par gradient de densité, ont été utilisés pour la préparation des échantillons avant la PCR. Malgré ces mesures, il est impératif d'inclure des contrôles internes positifs, car il est difficile de garantir l'absence totale de substances inhibitrices dans les échantillons naturels [77].

4.9 Les puces à ADN

Sont apparues comme un moyen sensible et efficace de distinguer un organisme cible des contaminants. Elle implique l'utilisation de sondes spécifiques aux agents pathogènes immobilisées sur une matrice pour la détection des agents pathogènes dans différents échantillons d'aliments.

Une micropuce à ADN a été mise au point pour la détection de *Y. enterocolitica* dans les légumes frais.

Des micropuces combinées à l'amplification par PCR de quatre gènes de virulence (*virF*, *ail*, *yst* et *blaA*) ont été utilisées pour la détection de *Y. enterocolitica* dans du lait entier pasteurisé [122][123].

Récemment, une méthode d'identification de *Y. enterocolitica* basée sur une puce à ADN a été conçue en utilisant de l'ADN fragmenté de manière aléatoire.

Une puce à ADN multiplex à haute spécificité basée sur la PCR a été utilisée pour la détection simultanée de dix entéropathogènes, dont *Y. enterocolitica*.

Récemment, une puce de biocapteur optique à couche mince à base de silicium pour la détection sensible de 11 pathogènes alimentaires, dont *Y. enterocolitica*, a également été développée.

Bien que cette méthode ait été utilisée pour la détection des agents pathogènes dans des échantillons cliniques, elle peut être améliorée pour une utilisation dans des échantillons environnementaux et alimentaires [124][125][126].

4.10 L'amplification isotherme à médiation de boucle (LAMP)

Un nouveau test d'amplification des acides nucléiques, gagne en popularité en tant que nouvel outil de diagnostic moléculaire pour les pathogènes d'origine alimentaire. Il s'agit d'une

amplification cyclique isotherme de l'ADN cible dans un bain-marie ou un bloc chauffant, sans besoin de réactif particulier.

Contrairement à la PCR classique, les réactions LAMP ne nécessitent pas d'équipement spécialisé pour la visualisation des produits finaux [127][128]

La méthode LAMP avec le gène *gyrB* (*gyrase B*) a été utilisée comme cible pour détecter *Y. enterocolitica* dans le porc.

De même, le LAMP ciblant le gène *phoP* (régulateur de la réponse transcriptionnelle) a été utilisé pour détecter *Y. enterocolitica* à partir d'un total de 102 échantillons d'aliments, et les résultats étaient précis à 100 % lorsqu'ils étaient confirmés par le séquençage et la digestion de restriction avec EcoRI [129][130].

4.11 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) et la spectrométrie de masse à temps de vol par désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI-TOF-MS)

Ont été récemment modifiées et utilisées pour l'identification de *Y. enterocolitica* au niveau des espèces et sous-espèces. Il a été démontré que le FT-IR était meilleur que le système de test API 20E pour l'identification des souches. En outre, les souches pourraient être différenciées en fonction des biotypes et des sérotypes avec une précision de >98 % et >92 %, respectivement.

Récemment, la MALDI-TOF-MS a été signalée comme une technique fiable pour l'identification rapide des souches de *Y. enterocolitica* et elle permet également le sous-typage des souches au niveau du biotype.

Les systèmes Biotyper et Biomerieux Vitek MS MALDI-TOF MS sont approuvés par la FDA pour utilisation diagnostic in vitro pour identifier les isolats cultivés de *Y. enterocolitica* et de *Y. pseudotuberculosis* (identification au niveau de l'espèce).

La rapidité, la facilité d'application et le haut débit d'analyse rendent ces techniques supérieures aux autres méthodes d'identification disponibles pour la détection de *Yersinia spp.* Toutefois, de nouvelles modifications de ces méthodes sont nécessaires afin de réduire le coût élevé des intrants et les longues procédures de préparation des échantillons pour leur application dans la détection de routine [72][131][132].

Chapitre 5 : Résistance aux antibiotiques

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration plus élevés d'antibiotique.

Selon l'OMS, une souche résistante est une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce [133].

1. Types de résistance aux antibiotiques

1.1 La résistance naturelle

La résistance naturelle, appelé aussi résistance intrinsèque, est une caractéristique propre d'un germe ou d'une espèce bactérienne porté par le chromosome, elle est stable et transmise à la descendance, elle constituer un caractère d'identification et déterminer le phénotype « sauvage » des espèces bactérienne vis-à-vis des antibiotiques.

Elle est caractéristique de toutes les souches de la même espèce produite soit par l'absence de la cible de l'antibiotique ou l'imperméabilité de la paroi cellulaire, cette résistance naturelle est produite généralement chez les bactéries à gram négatif [133][134][135].

1.2 La résistance acquise

La résistance acquise est définie par la capacité d'une bactérie à acquérir des nouveaux gènes capables de rendre cette bactérie résistante d'un antibiotique ou d'un groupe des antibiotiques, ces gènes sont obtenus soit par mutation au niveau de chromosome, soit par un transfert des éléments mobiles principalement les plasmides, les transposants et les intégrants.

A l'inverse d'une résistance naturelle, une résistance acquise ne concerne que certaines souches bactériennes au sein d'une espèce donnée, elle peut même effectuer entre différentes espèces et également entre différents genres bactériens [29][133][135].

1.3. La résistance croisée

La résistance croisée est définie comme la résistance d'un même groupe des antibiotiques basée sur un seul mécanisme de résistance.

La conséquence majeure de la résistance croisée est la sélection croisée ; n'importe quel antibiotique de la classe peut sélectionner des bactéries résistantes à tous les membres.

La Co-résistance correspond à impliquer plusieurs gènes de résistance par plusieurs mécanismes sur différentes familles d'antibiotiques [4][135].

2. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques

2.1 Mécanismes biochimiques

Cinq mécanismes principaux sont responsables de la résistance aux antibiotiques :

- Modification de la cible des antibiotiques.
- Synthèse des enzymes inactivant les antibiotiques.
- Une modification des enveloppes bactérienne qui empêche l'antibiotique de traverser la paroi et donc atteindre sa cible.
- Diminution de l'accumulation intracellulaire d'agents antimicrobiens (efflux actif de l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie).
- Plusieurs de ces mécanismes peuvent intervenir chez une bactérie conférée une multi-résistantes aux antibiotiques de la même famille ou des différentes familles [133][136].

2.2 Mécanisme génétique

Ces mécanismes génétiques sont de deux types :

Soit par une modification d'ADN chromosomique par mutation ou un transfert de l'ADN plasmidique, ces deux mécanismes peuvent survenir d'une manière très variée simultanément ou successivement [133].

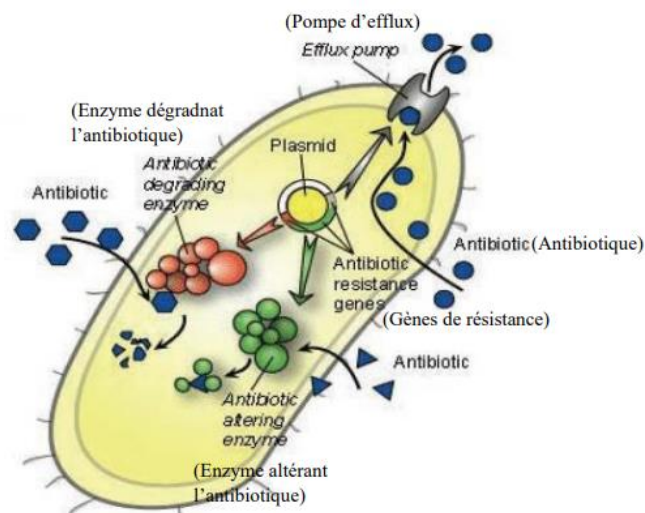


Figure 3 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques [137].

3. Tests de sensibilité des souches bactérienne aux antibiotiques

La sensibilité in vitro des souches pathogènes aux agents chimio thérapeutiques peut être déterminée par divers méthodes, dans le diagnostic de routine, le test de diffusion sur gélose est le plus largement utilisé cependant, il existe d'autres méthodes moins fréquemment utilisés tels que : la dilution sur gélose et le test epsilon (Test E) [138][139].

3.1. Antibiogramme

3.1.1. Définition

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne donc de juger l'efficacité d'un antibiotique [29].

3.1.2. Principe

L'antibiogramme a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice d'une souche bactérienne vis à vis de divers antibiotiques. La concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique est la plus faible concentration d'un antibiotique capable d'inhiber la multiplication de bactéries après 18 à 24 heures de contact à 37°C [138][140].

3.1.3. Technique

Il existe plusieurs techniques pour réaliser un antibiogramme parmi eux les méthodes de dilution, méthodes de diffusion (antibiogramme standard).

La méthode de diffusion ou antibiogramme standard consiste sur l'application des disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques sur la surface d'une gélose Muller Hinton (voir annexe 01) préalablementensemencée avec une culture pure de la souche à étudier pour permettre aux antibiotiques de diffusée de manière uniforme si bien que leur concentration sont inversement proportionnelle à la distance du disque afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI.

Cette méthode est essentiellement quantitative elle permet de caractériser les souches en résistante (R), intermédiaire(I) et sensible (S) [133].

Plusieurs systèmes de l'antibiogramme automatisé sont disponibles à nos jours et sont souvent à la faveur des laboratoires d'analyse car ils ont facilité le travail des microbiologistes à travers l'établissement des listes des antibiotiques à tester automatiquement et en fonction des espèces,

permettant une lecture rapide et interprétative des résultats et ces systèmes sont capables de prédire non seulement le phénotype des souches qui réagissent aux antibiotiques à tester mais aussi de savoir le type de mécanisme utilisé par la bactérie pour résister à ces antibiotiques.

Le déterminisme génétique de la résistance qu'elle que soit naturelle ou acquise est de mieux en mieux appréhendé grâce aux progrès des méthodes d'analyse moléculaire incluant le clonage des gènes, l'amplification génique comme la PCR en temps réel, la microgyrase (puce à ADN) et le séquençage ...etc [135].

Y. enterocolitica produit naturellement une céphalosporinase et une pénicillinase, elle est donc résistante aux aminopénicillines, à l'association amoxicilline-acide clavulanique, aux carboxypénicillines et aux céphalosporines de première génération, elle est sensible aux aminosides telle la gentamicine, aux tétracyclines, au cloramphénicol, aux sulfamides, au cotrimoxasole, aux cyclines et aux fluoroquinolones [29].



Figure 4 : Antibiogramme par diffusion aux β -lactamines de *Y. enterocolitica* [141].



Figure 5 : Antibiogramme par diffusion des autres antibiotiques aminosides et quinolones [141].

Conclusion
et
Perspectives

Conclusion et perspectives

L'objectif de cette étude repose essentiellement sur l'évaluation de l'efficacité des différentes méthodes d'isolement de *Y. enterocolitica* et d'autre part à la détermination de la résistance vis-à-vis les antibiotiques couramment utilisés.

Les *Yersinia* ont des caractères cultureux particuliers qui rendent parfois leur isolement difficile à partir d'un échantillon poly microbien. Les difficultés reliées à l'isolement de *Y. enterocolitica* proviennent de la flore associée, présente en grand nombre dans les échantillons. Différentes méthodes sont disponibles pour l'isolement.

L'isolement direct est rarement concluant même sur milieux sélectifs et les étapes d'enrichissement qui prennent du temps sont nécessaires. Plusieurs géloses sélectives ont été utilisées pour isoler *Y. enterocolitica* telles quelques géloses Mac Conkey, DC et SS sur ces milieux, les souches de *Y. enterocolitica* poussent bien mais lentement et sont facilement envahies par d'autres bactéries entériques du fait de leur faible sélectivité.

Les milieux existants ont été modifiés et des milieux entièrement nouveaux ont été développer pour gagner la sélectivité comme : SSDC, CIN, bAbY4...., la gélose CIN reste néanmoins la plus couramment utilisée du fait de sa haute spécificité et du taux élevé de confirmation des souches présomptives

Aucune procédure unique qui décrirait tous les sérotypes, n'est actuellement disponible, bien qu'aucune méthode ne soit entièrement satisfaisante, l'utilisation de techniques de pré-enrichissement et de milieux sélectifs améliore l'isolement de cette bactérie.

Des méthodes alternatives de détection ont été proposées comme les méthodes de biologie moléculaire ou immunologiques sont des moyens utilisés pour quantifier les bactéries dans les milieux naturels et dans les aliments, offrent ainsi une alternative fiable et en pleine expansion pour l'énumération des bactéries quand la bactérie n'a pu être isolée, mais peuvent présenter des inconvénients car elles sont coûteuses et prennent du temps.

La yersiniose est devenue plus répandue au cours de ces dernières années. La transmission féco-orale de l'animal à l'homme se produit le plus souvent au travers des denrées alimentaires ou des eaux contaminées Elle est responsable chez l'homme de plusieurs pathologies : entérites, érythème noueux, adénite mésentérique et même des arthrites ont été observées. Le diagnostic se fait par coproculture ou examen sérologique.

Y. enterocolitica est résistante aux bêta-lactamines excepté les céphalosporines de troisième génération, les antibiotiques les plus actifs sont les fluoroquinolones, les tétracyclines, les aminosides, les sulfamides et le cotrimoxazole.

A la lumière de cette étude, il convient de formuler les perspectives suivantes :

- Réaliser une étude prospective
- Prendre conscience du nombre d'infections à *Y. enterocolitica* en Algérie par l'inclusion de *Y. enterocolitica* parmi les bactéries recherchées au niveau de nos laboratoires.
- Les méthodes phénotypiques restent cependant limitées à un diagnostic présomptif, qui devrait être soutenu par des techniques plus performantes (les techniques moléculaires) qui pourrait mieux contribuer à identifier les souches.
- Etudier les facteurs de virulence pour distinguer les biotypes pathogènes des non pathogènes de *Y. enterocolitica*.
- Finalement la perspective la plus importante est de développer une méthode standard efficace, rapide et moins coûteuse pour l'isolement de toutes les souches de *Y. enterocolitica* et par conséquent motiver la recherche de cette bactérie dans notre pays.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques :

1. **Mirabaud, M.I.**(2003). Entérobactéries à bêta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996. Thèse de doctorat : Médecine. Genève : Université de Genève,1-2p.
2. **Véron, M., Leminor, L.**(1989).Bactériologie médicale 2ème édition .Paris : Flammarion médecine science .389-460p.
3. **Djemal ,M., Mennour,M .**(2019).Recherche et identification des *Yersinia spp.* au niveau des sols et des eaux des lacs des régions de djebel El ouahch et d El meridje. Mémoire de master : Biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des frères Mentouri ,1-19-22p.
4. **Boumessrane,R., Rabhi,S.**(2018).Etude et identification de *Yersinia enterocolitica* détermination des profils antibiotypiques et électrophorétiques de l'ADN total .Mémoire de Master : Biologie moléculaire des microorganisme. Constantine : Université des frères Mentouri , 1-21-23-43p.
5. **Aziz ,M., Yelamanchili ,V.S.** *Yersinia Enterocolitica*. [Mis à jour le 6 juillet 2020]. Dans : StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing; 2020 janv. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499837/>
6. **Schiemann, D. A.** (1979). Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*. *Canadian journal of microbiology* ,25(11), 1298-1304.
7. **Dudley, M. V., Shotts, E. B.** (1979). Medium for isolation of *Yersinia enterocolitica*. *Journal of clinical microbiology* , 10(2), 180-183.
8. **Soltész, L. V., Schalén, C., et Mårdh, P. A.** (1980). An effective, selective medium for *Yersinia enterocolitica* containing sodium oxalate. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology* , 88, 11-16.
9. **Butzler,J.P., Cvjetanovic.B., Grados,O., Rowe, B., Sharma, K. B.,et Winblad ,S.**(1980). Infection intestinale due à *Campylobacter, Yersinia, Salmonella, Shigelle*. *Bulletin de l'organisation de la santé*,58(5) ,691-711.
10. **Hadef, Kh. Z., Medjahdi Kh., Beldjilali ,H., Benamar, I.,et Moussa-Boudjemâa, B.**(2016). Safety characterization of *Yersinia enterocolitica* strains isolated from raw milk in Western Algeria. *African Journal of Microbiology Research* , 10(1), 15-22.
11. **Madigan, M.P., Martinko, J.**(2007).Brock biologie des microorganismes 11^{ème} édition. France : Pearson Education .354p.
12. **Bendoukhane ,H., Djafer,K .**(2016) . MALDI-TOF spectrométrie de masse : un outil efficace pour l'identification rapide et faible des souches bactériennes. Mémoire de Master :

- Microbiologie générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université des frères Mentouri ,4-5p.
13. **Denis,F., Ploy,M .S., Martin,C., Binjen,E., Quentin,R.**(2007). Bactériologie médicale 2éme édition : Techniques usuelles. Paris :Elsvier masson .331p.
 14. **Pierre -Guiraud , J.**(2012).Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod.80p.
 15. **Meziani, M.** (2012).Contribution de diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétique cas d'entérobactéries et *Pseudomonas*. Mémoire de magistère : Biochimie .Constantine : Université des frère Mentouri,3p.
 16. **Savadogo, M., Boubkeri, Y.**(2016).Isolement et étude de quelques entérobactéries pathogènes dans les eaux usées d'oued Boumer Zoug à Constantine .Mémoire de master : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des frères mentouri,3p.
 17. **Moussa, N.,Moussaoui , F .**(2016) .Recherche des entérobactéries productrice de β -lactamases à spectre élargi dans les viandes de volaille .Mémoire de master :Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement .Tébessa: Université de Tébessa ,5p .
 18. **Bottger , E.C., Jurs,M., Barrett,T., et Wachsmuth,k.** (1987) .Qualitative and Quantitative determination of Enterobacterial common antigen (ECA) with monoclonal antibodies : expression of ECA by two *Actinobacillus* species .*Journal of clinical Microbiology*, 25(2) , 377-382.
 19. **Perscott., Harley., Klein., Willey., Sherwood., Woolverton.**(2010).Microbiologie 3ème édition .Bruxelles : de boeck superieur .560p.
 20. **Solomon,T .**(1997).Hong kong 1894 .The role of jammes a lowson in the controversial discovery of the plague bacillus .*The lancet* , 350 (9070) , 323-354.
 21. **Jérome ,L.**(2014).Nouveaux anticorps monoclonaux contre les *Yersinia* pour le diagnostic et l'immunothérapie .Thèse de doctorat : Microbiologie .Paris : Université Paris SUD ,15-16p.
 22. **Bottone ,E.**(1997).*Yersinia enterocolitica* : The charisma continues .*Clinical microbiology reviews* ,10(2) , 257-276.
 23. **Bottone , E .**(1999).*Yersinia enterocolitica* : overview and epidmiologic correlates. *Microbe and infection*,1,(4), 323-333.
 24. **Denis ,F .**(2007).Bactériologie médicale : techniques usuelles .France :Elsevier masson .361 p.
 25. **Holt,J., Krieg,N., Sneath,P., Staley,J., Williams,S.**(1994) .Bergy's Manuel of determinative bactériologie Ninth Edition . Baltimore : williams & wikins,.189p.

26. **Florent ,S.** (2002) .Caractérisation génétique du locus uréase de *Yersinia pestis* et *Yersinia pseudotuberculosis* : Thèse de doctorat : Biologie et santé .France : Université des science et technologie de Lille , 8 p.
27. **Badri,N.,Necib,T.**(2016).Etude de la sensibilité des antibiotiques des souches entérobacteries isolées de fromage frais artisanale « jpean ».Mémoire de master :Microbiologie appliqué à la santé et environnement .Tébessa : Université de Larebi Tebessi ,26p.
28. **Carip, C.** (2008). Microbiology hygiène : Bases microbiologique de la diététique . Paris :Ed TEC & DOC Lavoisier. 89p.
29. **Boulahlib,S ., Benrahma ,M.**(2013).Caractérisation et étude de l'antibiorésistance de *Yersinia enterocolitica* .Mémoire de master : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes .Constantine : Université des frères Mentouri ,6-22p.
30. **Grosjeau, J., Clavé, D., Archambaud, M., Pasquier, C.** (2011). Bactériologie et virologie pratique 2ème édition.Paris :de boeck. 128p.
31. **Brooks,G ., Buten,J.S., et Ornston,L.N** .(1995).Medical microbiologie 20ème édition .London : Appleton & Lang .239p.
32. **Denis,F .,Cattoir,V.,Martin,C.**(2016).Bactériologie médicale : techniques usuelles 3ème édition .Paris : Elsevier masson .324p.
33. **Savin, C., Carniel, E.**(2008). Les diarrhées d'origine bactérienne le cas de *Yersinia enterocolitica*. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2008 (400), 49-58.
34. **Amos, M.**(2003). Le danger *Yersinia enterocolitica*. Thèse de doctorat vétérinaire. Paris : Ecole national vétérinaire d'Alfort ,8-78p.
35. **Fàbrega, A., Vila, J.**(2012). *Yersinia enterocolitica*: pathogenesis, virulence and antimicrobial resistance. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*, 30(1), 24-32.
36. **Skurnik, M., Toivonen, S.**(2011). Identification of distinct lipopolysaccharide patterns among *Yersinia enterocolitica* and *Y. enterocolitica-like* bacteria. *Biochemistry (Moscow)*, 76(7), 823-830.
37. **Ferwana,N.L** .(2007).Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and aeromonas hydrophile in clinical , food , and environment al samples in gaza strip. Thèse de doctorat .Microbiology .Gaza : Islamic university Gaza ,7-13p.
38. **Yersinia enterocolitica - Erasmus MC.** [En ligne]. (page consultée le 10/03/2020). <https://microbe-canvas.com/Bacteria.php?p=783>.
39. **Lecointre,G., Le Guyader,H.**(2001).Classification phylogénétique du vivant 3ème édition.Paris :Belin.62p.

40. **Fauchère, J.** (1997). Bactériofiches : Techniques en bactériologie clinique .Paris : Ellipses .221-227p
41. **Dufour, J.** (2005). Les diarrhées du macaque cynomolgus (*Macaca fascicularis*) : Essai de prophylaxie dans un élevage de l'île Maurice . Thèse de doctorat : Science vétérinaire .France : Université paul-sabier de toulouse, 57p.
42. **Denis , M.** (2012). Epidémiologie de *Yersinia enterocolitica* chez le porc, réservoir animal de souches pathogènes pour l'homme. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentaire*, (50) , 62p.
43. **Guiraud, J.P.** (1998). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Dunod. 137-227p.
44. **Guiraud ,J.** (1998). Microbiologie alimentaire .Paris : Dunod .89p.
45. **Atobla, K.** (2015). Profil phénotypique et moléculaire d'espèces du genre *Yersinia* du genre *Yersinia* isolées de la viande de porc (*Sus scrofa domestica*) et risque pour le consommateur abidjan (côté d'Ivoire) . Thèse de doctorat : Microbiologie et sécurité alimentaire. Côte d'Ivoire : Université Naingui Abrogoua ,15p.
46. **Sierra, M., Gonzalez-Fandos , E., Garcia-Lopez, M., Fernandez, M., et Prieto, M.** (1995). Prevalence of *Salmonella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, and cold-Growing *Escherichia coli* on freshly dressed land carcasses. *Journal of food protection*, 58,(11), 1183-1185.
47. **Park, S., Smith, L.T., Smith, G.M.** (1995). Role of glycine betaine and related osmolytes in osmotic stress adaptation in *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610. *Applied and environmental microbiology*, 61(12), 4378-4381.
48. **Meddah, K.** (2019). Evaluation du milieu CHROMagar *Yersinia enterocolitica*. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Bouira : Université Akli Mohand Oulhadj ,3-9-12p.
49. **Bercovier, H., Brenner, D.J., Ursing, J., Steigerwalt, A.G., Richard Fanning, G., Alonso, J.M., Carter, G.P., et Mollaret, H. H.** (1980). Characterization of *Yersinia enterocolitica* sensu stricto .*Current microbiology*, 4(1980), 201-206.
50. **Freney, J., Renaud, F., Hansen, W., et Bollet, C.** (2000). Précis de bactériologie clinique. Paris .1167p.
51. **Avril, J.L.** (2000). Bactériologie clinique 3^{ème} édition. Paris : Ellipses. 227-1167p.
52. **Zadernowska, A., Chajęcka-Wierzchowska, W., et Łaniewska-Trokanheim, Ł.** (2013). *Yersinia enterocolitica*: A Dangerous, But Often Ignored, Foodborne Pathogen. *Food Reviews International*, 30, 53-70.
53. **Skurnik, M., Zhang, L.** (1996). Molecular genetics and biochemistry of *Yersinia* lipopolysaccharide: *APMIS*, 104(12), 849-872.

54. **Skurnik, M., Venho, R., Bengoechea, J.A., Moriyon, I.**(1999). The lipopolysaccharides outer core of *Y. enterocolitica* sérotype O:3 is required for virulence and plays a role in outer membrane integrity. *Mol microbiol*,31(5), 1443-1462.
55. **Wauters, G., Aleksic, S., Charlier, J., Schulze, G.**(1991). Somatic and flagellar antigen of *Y. enterocolitica* and related species . *Contrib Microbiol Immunol*,12, 239-243.
56. **Letellier, A., Messier, S., Quessy, S.** (1999) . Prevalence of *Salmonella spp* and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoirs. *Journal Food Prot*,62,(1),22-25.
57. **Federighi, M.** (2005) .Bactériologie alimentaire : compendium d'hygiène des aliment 2ème édition .Paris : Economica .176p .
58. **Fredriksson-Ahomaa, M.**(2014). Enteropathogenic *Yersinia spp.* Zoonosis - Infections Affecting Humans and Animals. London: Springer Dordrecht Heidelberg.217p.
59. **Berche, P., Gaillard, J.L., Simonet, M.**(1988).Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Paris : Flammarion médecine-sciences .130-131p.
60. **Hallanvuori, S.**(2009).Food borne *Yersinia* : identification and molecular epidemiology of isolates from human infection .Helsinki : National institute for health and welfare.33-34p.
61. **Nauciel, C.** (2000). Bactériologie médicale .Paris : Masson .24p.
62. **Cornélis, G. R.**(1995). Le plasmide pYV, élément clé de la virulence des *Yersinia*.Médecine-science,11,1295-12304.
63. **Rakin, A., Garzetti, D., Bouabe, H., Sprague, L.D.**(2015). *Yersinia enterocolitica*. *Molecular Medical Microbiology*,6,1331.
64. **Bhunja, A. K.**(2018). *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pestis*. *Molecular Medical Microbiology* ,5,1331-1332p.
65. **De Koning-Ward, T.F., Robins-Browne, R. M.**(1995). Contribution of urease to acid tolerance in *Yersinia enterocolitica*. *Infection and immunity*, 63(10) ,3790-3795.
66. **Mills, J.**(2014). Microbiological safety of meat *Yersinia enterocolitica*. *Encyclopaedia of Meat Sciences*,2, 405-411.
67. **Dersch, P., Isberg, R.**(1997). Le mécanisme moléculaire de l'invasion cellulaire par *Yersinia pseudotuberculosis* par interaction de l'invasine et de l'intégrine. *Annales de l'Institut Pasteur / Actualités*, 8(2), 119-129.
68. **Iriarte, M., Cornelis, G. R.**(1995). MyfF, an element of the network regulating the synthesis of fimbriae in *Yersinia enterocolitica*. *Journal of bacteriology*, 177(3), 738-744.
69. **Carniel, E.** (2001). The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. *Microbes and Infection*, 3(7), 561-590.

70. **Pavlidis,D.E., Filter ,M., Buschulte ,A.**(2019). Application of data science in risk assessment and early warning. *Journal de l'EFSA*, 17(2), 10.
71. **O’Ryan, M. L., Nataro, J. P., et Cleary, T. G.** (2006). Microorganisms Responsible for Neonatal Diarrhea. Paris: Elsevier.633p.
72. **Dekker, J., Frank ,K.**(2015).*Salmonella, Shigella and Yersinia. Clin Lab Med* .35 (2), 225–246.
73. **Sæbø, A., Kapperud, G., Lassen, J., et Waage, J.** (1994). Prevalence of antibodies to *Yersinia enterocolitica* O:3 among Norwegian military recruits: Association with risk factors and clinical manifestations. *European Journal of Epidemiology*, 10(6), 749–755.
74. **Schiemann,D.A., Olson ,S.A** .(1984). Antagonism by gram-negative bacteria to growth of *Yersinia enterocolitica* in mixed culture. *Appl Environ Microbiol*, 48(3), 539–544.
75. **Fredriksson-Ahomaa,M., Korkeala,H** .(2003). Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem. *Clinical Microbiol Reviews*,16(2),220– 229.
76. **Fredriksson-Ahomaa, M.**(2012). Isolation of enteropathogenic *Yersinia* from non-human sources. *Advances in experimental medicine biology*,21, 97-105.
77. **Gupta, V., Gulati, P., Bhagat, N., Dhar, M. S., et Virdi ,J. S . S.**(2015). Detection of *Yersinia enterocolitica* in food: an overview. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 34(4), 641-650.
78. **Schiemann, D. A.** (1987). *Yersinia enterocolitica* in milk and dairy products. *Journal of dairy science*, 70(2), 383-391.
79. **Van Pee, W., Stragier, J.** (1979). Evaluation of some cold enrichment and isolation media for the recovery of *Yersinia enterocolitica*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 45(3), 465-477.
80. **Schiemann, D. A.** (1982). Development of a two-step enrichment procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from food. *Applied Environmental Microbiology*, 43(1), 14-27.
81. **De Boer, E.** (1992). Isolation of *Yersinia enterocolitica* from foods. *International journal of food microbiology*, 17(2), 75-84.
82. **Toora, S., Budu-Amoako, E., Ablett, R.F.,Smith,J.**(1994). Isolation of *Yersinia enterocolitica* from ready-to-eat foods and pork by a simple two step procedure. *Food Microbiol* ,11(5),369–374.
83. **Schiemann, D. A.**(1983). Alkalotolerance of *Yersinia enterocolitica* as a basis for selective isolation from food enrichments. *Applied and Environnemental Microbiology*, 46(1), 22-27.

84. **Wauters, G., Goossens, V., Janssens, M., et Vandepitte, J.**(1988). New enrichment method for isolation of pathogenic *Yersinia enterocolitica* serogroup O:3 from pork. *Applied and environmental microbiology*, 54(4), 851–854.
85. **Lee ,W.H., Harris,M.E., McClain,D.,Smith,R.E., Johnsson,R.W.** (1980). Two modified selenite media for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from meats. *Applied and environmental microbiology* ,39(1),205-209.
86. **Hussein, H.M., Fenwick ,S.G., Lumsden ,J.S.**(2001). A rapid and sensitive method for the detection of *Yersinia enterocolitica* strains from clinical samples. *Letters Applied Microbiology*, 33(6),445-449.
87. **Vidon, D. J., Delmas, C. L.** (1981). Incidence of *Yersinia enterocolitica* in raw milk in eastern France. *Applied Environmental Microbiology*, 41(2), 355-359.
88. **Lee, W. H.**(1977). Two plating media modified with Tween 80 for isolating *Yersinia enterocolitica*. *Applied and environmental microbiology*, 33(1), 215-216.
89. **Asakawa, Y., Akahane, S., Kagata, N., Noguchi, M., Sakazaki, R., et Tamura, K.**(1973). Two community outbreaks of human infection with *Yersinia enterocolitica*. *Epidemiology and Infection*, 71(4), 715-723.
90. **Schiemann, D. A.**(1983). Comparison of enrichment and plating media for recovery of virulent strains of *Yersinia enterocolitica* from inoculated beef stew. *Journal of food protection*, 46(11), 957-964.
91. **Tan,L.K., Ooi,P.T., Carniel,E., Thong,K.L.**(2014). Evaluation of a modified cefsulodin–irgasan–novobiocin agar for isolation of *Yersinia spp.* *PLoS One* ,9(8),1-10.
92. **Fukushima, H.**(1987). New selective agar medium for isolation of virulent *Yersinia enterocolitica*. *Journal of clinical microbiology*, 25(6), 1068-1073.
93. **Bercovier, H., Brault, J., Cohen, S., Melis,R., Lamberp,T., et Mollaret,H.**(1984). A new isolation medium for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from environmental sources. *Current Microbiology*, 10(3), 121-124.
94. **Van Damme, I., Berkvens, D., et De Zutter, L.**(2012). Effect of sampling and short isolation methodologies on the recovery of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pig tonsils. *Foodborne pathogens and disease*, 9(7), 600-606.
95. **Weagant, S.D.** (2008). A new chromogenic agar medium for detection of potentially virulent *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Microbiological Methods*, 72(2),185-190.
96. **Denis,M., Houard,E., Labbé,A., Fondrevez, M.,et Saldap,G.** (2011). A selective chromogenic plate, YECA, for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*: specificity,

- sensitivity, and capacity to detect pathogenic *Y. enterocolitica* from pig tonsils. *Journal Pathogens*,2011,29-75.
97. **Renaud, N., Lecci, L., Courcol, R. J., Simonet, M., et Gaillot, O.**(2013). CHROMagar *Yersinia*, a new chromogenic agar for screening of potentially pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolates in stools. *Journal of clinical microbiology*, 51(4), 1184-1187.
 98. **Devenish,J.A., Schiemann,D.A.**(1981). An abbreviated scheme for identification of *Yersinia enterocolitica* isolated from food enrichments on CIN (cefsulodin–irgasan–novobiocin) agar. *Canadian Journal of Microbiology* ,27(9),937–941.
 99. **Camille,D.**(2014).Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures.Paris:Lavoisier.240-365p.
 100. **Soriano, J. M., Rico, H., Molto, J. C., et Manes, J.**(2001). Incidence of microbial flora in lettuce, meat and Spanish potato omelette from restaurants. *Food Microbiology*, 18(2), 159-163.
 101. **Maoz, A.** (2003). Biodiversity of anti-listerial microbial cheese ripening consortia and monitoring of a recombinant *Yersinia enterocolitica* reporter strain on soft cheese. Thèse de doctorat:Microbiologie. München : Université techniques de München.23-60p.
 102. **Patel, P.D., Williams ,D.W.**(1994). In Rapid analysis techniques in food microbiology. London: Chapman and hall.87–88.
 103. **Kapperud, G., Vardund, T., Skjerve, E., Hornes, E., et Michaelsen, T. E.** (1993). Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in foods and water by immunomagnetic separation, nested polymerase chain reactions, and colorimetric detection of amplified DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(9), 2938-2944.
 104. **Rasmussen, H. N., Rasmussen, O. F., Christensen, H., et Olsen, J. E.**(1995). Detection of *Yersinia enterocolitica* O: 3 in fecal samples and tonsil swabs from pigs using IMS and PCR. *Journal of applied bacteriology*, 78(5), 563-568.
 105. **Hochel,I., Skvor ,J.**(2007). Characterization of rabbit antibodies for immunochemical detection of *Yersinia enterocolitica*. *Folia Microbiol (Praha)*, 52(5),511–518.
 106. **Kaneko,S., Maruyama,T.**(1989).Evaluation of enzyme immunoassay for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains. *Journal of Clinical Microbiology* ,27(4),748–751.
 107. **Thibodeau,V., Frost, E., Quessy, S.**(2001). Development of an ELISA procedure to detect swine carriers of pathogenic *Yersinia enterocolitica*. *Veterinary Microbiology* ,82(3),249–259.

108. **Magliulo, M., Simoni, P., Guardigli, M., Michelini, E., Luciani, M., Lelli, R., et Roda, A.** (2007). A rapid multiplexed chemiluminescent immunoassay for the detection of *Escherichia coli* O157: H7, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* pathogen bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(13), 4933-4939.
109. **Gui, J., Patel, I. R.** (2011). Recent advances in molecular technologies and their application in pathogen detection in foods with particular reference to *Yersinia*. *Journal of pathogens*, 3, 2011.
110. **Oh, B. K., Lee, W., Chun, B. S., Bae, Y. M., Lee, W. H., et Choi, J. W.** (2005). Surface plasmon resonance immunosensor for the detection of *Yersinia enterocolitica*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 257, 369-374.
111. **Malorny, B., Tassios, P. T., Rådström, P., Cook, N., Wagner, M., et Hoorfar, J.** (2003). Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. *International journal of food microbiology*, 83(1), 39-48.
112. **Nesbakken, T., Kapperud, G., Dommarsnes, K., Skurnik, M., et Hornes, E.** (1991). Comparative study of a DNA hybridization method and two isolation procedures for detection of *Yersinia enterocolitica* O: 3 in naturally contaminated pork products. *Applied and environmental microbiology*, 57(2), 389-394.
113. **Goverde, R., Jansen, W., Brunings, H., Huis in 't Veld, J., et Mooi, F.** (1993). Digoxigenin-labelled *inv*- and *ail*-probes for the detection and identification of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical specimens and naturally contaminated pig samples. *Journal of applied bacteriology*, 74(3), 301-313.
114. **Durisin, M., Ibrahim, A., Griffiths, M.** (1997). Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in milk and pork using a DIG-labelled probe targeted against the *yst* gene. *International Journal of Food Microbiology*, 37(3), 103-112.
115. **Raymond, P., Houard, E., Denis, M., et Esnault, E.** (2019). Diversity of *Yersinia enterocolitica* isolated from pigs in a French slaughterhouse over 2 years. *MicrobiologyOpen*, 8(6), 1-10.
116. **Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., Korkeala, H.** (2006). Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 47(3), 315-329.
117. **Nakajima, H., Inoue, M., Mori, T., Itoh, K., Arakawa, E., et Watanabe, H.** (1992). Detection and identification of *Yersinia pseudotuberculosis* and pathogenic *Yersinia*

- enterocolitica* by an improved polymerase chain reaction method. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(9), 2484-2486.
118. **Weynants, V., Jadot, V., Denoel, P., Tibor, A., Letesson, J.** (1996). Detection of *Yersinia enterocolitica* serogroup O: 3 by a PCR method. *Journal of clinical microbiology*, 34(5), 1224-1227.
119. **Nilsson, A., Lambertz, S., Staalhandske, P., Norberg, P., Danielsson-Tham, M.** (1998). Detection of *Yersinia enterocolitica* in food by PCR amplification. *Letters in applied microbiology*, 26(2), 140-144.
120. **Garzetti, D., Susen, R., Fruth, A., Tietze, E., Heesemann, J., Rakin, A.** (2014). A molecular scheme for *Yersinia enterocolitica* patho-serotyping derived from genome-wide analysis. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(3-4), 275-283.
121. **Cheyne, B., Van Dyke, M., Anderson, W., et Huck, P.**(2010). The detection of *Yersinia enterocolitica* in surface water by quantitative PCR amplification of the ail and yadA genes. *Journal of water and health*, 8(3), 487-499.
122. **Ikeda, M., Yamaguchi, N., Tani, K., Nasu, M.** (2006). Detection of food poisoning bacteria in fresh vegetables using DNA microarray. *Journal of Health science*, 52(1), 36-42.
123. **Myers, K., Gaba, J., Al-Khaldi ,S.**(2006). Molecular identification of *Yersinia enterocolitica* isolated from pasteurized whole milk using DNA microarray chip hybridization. *Molecular and Cellular Probes*, 20(2006),71–80.
124. **Bang, J., Beuchat, L., Gu, M., Chang, H., Ryu, J.** (2010). Identification of *Yersinia enterocolitica* using a random genomic DNA microarray chip. *Letters in applied microbiology*, 51(6), 665-670.
125. **Kim, D. H., Lee, B. K., Kim, Y. D., Rhee, S. K., Kim, Y. C.** (2010). Detection of representative enteropathogenic bacteria, *Vibrio spp.*, pathogenic *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, and *Yersinia enterocolitica*, using a virulence factor gene-based oligonucleotide microarray. *The Journal of Microbiology*, 48(5), 682-688.
126. **Bai, S., Zhao, J., Zhang, Y., Huang, W., Xu, S., Chen, H., Fan ,L., Chen ,Y., Deng, X. W.** (2010). Rapid and reliable detection of 11 food-borne pathogens using thin-film biosensor chips. *Applied microbiology and biotechnology*, 86(3), 983-990.
127. **Tomita, N., Mori, Y., Kanda, H., Notomi, T.** (2008). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. *Nature protocols*, 3(5), 877-882.

128. **Mori, Y., Nagamine, K., Tomita, N., Notomi, T.** (2001). Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochemical and biophysical research communications*, 289(1), 150-154.
129. **Gao, H., Lei, Z., Jia, J., Wang, S., Chen, Y., Sun, M., et Liang, C.** (2009). Application of loop-mediated isothermal amplification for detection of *Yersinia enterocolitica* in pork meat. *Journal of microbiological methods*, 77(2), 198-201.
130. **Li, Y., Jiang, M., Liu, W., Zhang, L., Zhang, S., Zhao, X., Xiang, R., Liu, Y.** (2010). Loop-mediated isothermal amplification method targets to the *phoP* gene for detection of *Yersinia enterocolitica*. *Molecular and cellular probes*, 24(2), 68-71.
131. **Kuhm, A. E., Suter, D., Felleisen, R., Rau, J.** (2009). Identification of *Yersinia enterocolitica* at the species and subspecies levels by Fourier transform infrared spectroscopy. *Applied and environmental microbiology*, 75(18), 5809-5813.
132. **Stephan, R., Cernela, N., Ziegler, D., Pflüger, V., Tonolla, M., Ravasi, D., Fredriksson-Ahomaa, M., Hächler, H.** (2011). Rapid species specific identification and subtyping of *Yersinia enterocolitica* by MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of microbiological methods*, 87(2), 150-153.
133. **Benmenia, F., Boukezzoula, S., Boulkroun, F., Habila, M.** (2018). Place des bacilles gram négatif urée positive dans l'infection urinaire. Mémoire de pharmacie : Pharmacie. Constantine : Université Constantine 3, 13-20p.
134. **Benabdallah-Khodja, A., Hamlaoui, Y.** (2016). Etude phénotypique de quelques souches d'*Escherichia coli* productrices des carbapénèmases. Mémoire de Master : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des frères Mentouri, 65p.
135. **Meyer, C.** (2007). Résistance aux antibactériens dans les souches de *Yersinia enterocolitica* provenant de diverses sources à l'aide d'un test de diffusion sur gélose et d'une méthode de microdilution en bouillon. Thèse de doctorat. Allemagne : Université Ludwig Maximilians de Munich, 2-49p.
136. **Mouton, Y., Bingen, E., et Deboscker, Y.** (2000). Antibiotiques, antiviraux, anti-infectieux. John Libbey Eurotext. 29-39p. Disponible sur: <https://books.google.dz/books?id=iLE1PfpzpbTYC&pg=PA52&dq=Mouton>
137. **Molton, J. S., Tambyah, P. A., Ang, B. S., Ling, M. L., Fisher, D. A.** (2013). The global spread of healthcare-associated multidrug-resistant bacteria: a perspective from Asia. *Clinical infectious diseases*, 56(9), 1310-1318.

138. **Eyquem, A., Alouf, J., et Montagnier, L.** (2000). Traité de microbiologie clinique. Piccin. 71-80p. Disponible sur <https://books.google.dz/books?hl>
139. **Offret, H., Labetoulle, M., et Frau, E.** (2003). Thérapeutiques médicamenteuses en ophtalmologie. Elsevier Masson. 14-36p. Disponible sur: <https://books.google.dz/books?id=72CVvAbDDjcC&printsec=frontcover&dq=Offret,+H.,+L>
140. **Leigh, R. M.** (2019). Antibiotiques: Things You Should Know (Questions et Réponses). Independently Published. 25p. Disponible sur : <https://books.google.dz/books?id=nsCvDwAAQBAJ&pg=PT3&hl>
141. **YERSINIA II – Microbes-edu.org.** [En ligne]. (page consultée le 10/11/2020). <http://www.microbes-edu.org/professionel/yer1.html>

Annexe

Annexe 01 : La composition des milieux de culture

Bouillon tampon phosphate salin (PBS) : g/l	
NaCl	8,0 g
KCl	0,2 g
Na ₂ HPO ₄	1,44 g
KH ₂ PO ₄	0,24g
pH= 7,6	

TSB :Bouillon trypto-caseine-soja : g/l	
Hydrolysate de caseine.....	17g
Peptone de soja.....	3g
Chlorure de calcium.....	5g
Phosphate de potassium.....	2,5g
Glucose.....	2,5g
pH =7,3	

Milieu Mac Conkey : g/l	
Peptone	20 g
Lactose	10 g
Sels biliaires n°3	1.5 g
Cristal violet	0.001 g
Rouge neutre	0.05 g
Chlorure de sodium.....	05 g
Agar	15 g
pH = 7.1	

Milieu Gélose Salmonella-Shigella (SS) : g/l	
Extrait de viande de bœuf.....	5 g
Polypeptone.....	5 g
Sels biliaires	8,5 g
Thiosulfate de sodium	8,5 g
Citrate ferrique.....	1 g
Citrate de sodium	10g

Lactose.....	10g
Vert brilliant.....	0,00033g
Rouge neuter.....	0,025g
Agar	13,5g
pH = 7,0	

Milieu Gélose Hektoen : g/l	
Peptone de viande	12 g
Extrait de levure	3 g
Sels biliaries.....	9 g
Lactose.....	12 g
Saccharose	12 g
Salicine.....	2 g
Chlorure de sodium	5 g
Hyposulfite de sodium	5 g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5 g
Bleu de bromothymol	0,064 g
Fushine acide.....	0,040 g
Agar	13,5 g
pH= 7,6	

Milieu CIN	
L'eau distillée.....	748 ml
Peptone spéciale	20 g
Extrait de levure	2 g
Mannitol.....	20 g
Acide pyruvique (sel de sodium)	2 g
Chlorure de sodium	1 g
Magnésium sulfate 7H ₂ O.....	10 mg
Gélose	12 g
Solution d'isgasan DP300 (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy diphényléther).....	10 ml
Sels biliaries	2g
NaOH	10 ml

Rouge neutre	3 mg
Cristal violet.....	0,1 mg
Cefsulodine	1,5 mg
Novobiocine	1,5 mg
Solution à 10% de chlorure de strontium	10 ml
pH = 7,4	

Milieu gélose CAL (cellobiose-argininelysine) : g/l	
Cellobiose	3,5 g
Chlorhydrate de L-arginine	6,5 g
Chlorhydrate de L-lysine	6,5 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Désoxycholate de sodium	1,5 g
Agar	20,0 g
Rouge neutre	0,03 g
pH=7,1	

Milieu MY : g/l	
Peptone bactériologique	15 g
Hydrolysate de caséine	5 g
Lactose	10 g
Oxalate de sodium.....	8 g
Désoxycholate de sodium	16 g
Chlorure de sodium	5 g
Sels biliaires.....	5 g
Rouge neutre	0.08 g
Bacto-Agar	20 g
pH= 7.4	

Milieu Brain Heart Infusion (BHI): g/l	
Infusion cœur-cerveille.....	8 g
Digestion peptidique	5 g
Digestion pancréatique de caséine.....	16 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Glucose.....	2 g
Phosphate d'hydrogène disodique.....	2,5 g
Gélose.....	13,5 g
pH = 7,4 ± 0,2	

Milieu Mueller-Hinton: g/l	
Extrait de viande	3 g
Hydrolysate acide de caséine	17.5 g
Amidon	10.5 g
Agar.....	16 g
pH = 7.3	

Les méthodes d'isolement et d'identification de *Yersinia enterocolitica*.

Résumé :

Y. enterocolitica appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, les caractères d'orientation rapide pour *Y. enterocolitica* sont : uréase+ très rapide, citrate -, ODC+, TDA-. *Y. enterocolitica* est constituée d'un groupe des souches hétérogène biochimiquement repartis en six biotypes et sérologiquement plus de 70 sérogroupes.

Notre travail présente les différentes techniques d'isolement et d'identification phénotypique de *Y. enterocolitica* dans le but de caractériser cette bactérie sur le plan morphologique, physiologique et biochimique et de présenter un profil de résistance vis-à-vis des antibiotiques couramment utilisés.

Y. enterocolitica possède des caractères culturels particuliers qui rendent parfois son isolement difficile à partir d'un échantillon polymicrobien. Les difficultés liées à l'isolement de *Y. enterocolitica* proviennent de la flore associée, présente en grand nombre dans les échantillons. Différentes méthodes sont disponibles pour l'isolement.

Des méthodes alternatives de détection ont été proposées comme les méthodes de biologie moléculaire ou immunologiques sont des moyens utilisés pour quantifier les bactéries dans les milieux naturels et dans les aliments, offrent ainsi une alternative fiable et en pleine expansion pour l'énumération des bactéries quand la bactérie n'a pu être isolée, mais peuvent présenter des inconvénients car elles sont coûteuses et prennent du temps.

Y. enterocolitica est résistante aux bêta-lactamines excepté les céphalosporines de troisième génération, les antibiotiques les plus actifs sont les fluoroquinolones, les tétracyclines, les aminosides, les sulfamides et le cotrimoxazole.

Mot clés : *Y. enterocolitica*, isolement, identification, méthodes d'études.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mlle *MEZIANI Meriem* (Maître assistante A - UFM Constantine).

Rapporteur : Mme *BOUZERAIB Latifa* (Maître assistante A - UFM Constantine).

Examineur : Mr *CHABBI Rabah* (Maître assistante A - UFM Constantine).

Préparé par : *BELHADJ MOSTEFA Sonia*.
MERAHI Soundous.

Année universitaire : 2019 -2020.