



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université CHIKH LAARBI TEBESSI -Tébessa

Faculté des sciences exactes et science de la nature et de la vie

Département de Biologie appliquée

Domaine science de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Thème :

**Caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolées des produits pathologiques**

Présenté et soutenu par : BOUTALEB Naima

Le : 22/06/2019

DRID Mouna

MERZOUGUI Hassane

Devant le jury:

Président de jury : Mme . FARHI. S MAA. Université Laarbi Tébessi (Tébessa)

Promoter: Mr. MECHAI. A/B MCA. Université Laarbi Tébessi (Tébessa)

Co-promoteur: Mme. DEBABZA. M MCA. Université Laarbi Tébessi (Tébessa)

Examineur : Mr. MENASRIA.T MAA. Université Laarbi Tébessi Tébessa)

ANNEE UNIVERSITAIRE :2019-2020

## ملخص

يهدف هذا البحث الى تقييم تواتر البكتيريا المعوية المأخوذة من عدة عينات من عدة مستشفيات لولاية تبسة. و ايضا تقييم حساسية هذه البكتيريات للمضادات الحيوية.

ان السلالات المعزولة تم التعريف بها حسب الخصائص البكتريولوجية الكلاسيكية. و لقد تم دراسة حساسيتها ب 15 مضاد حيوي بطريقة الانتشار بالأقراص تم الحصول على 60 سلالة من عصيات سلبية الغرام النقية.

لقد تم عزل 44 بكتيريا معوية بنسبة 73.33% حيث تصدرت القائمة كل من *E.coli* و *Enterobacter cloacae* بنسبة 20.45% و *Klebsiella pneumoniae* بنسبة 18.18%. اظهرت السلالات المعزولة مقاومة عائلات المضادات الحيوية خاصة البيتالاكتاماز مع فعالية ملحوظة للايميبينام و الامينوزيد و الفليوروكينولون . من ناحية اخرى اظهرت ثلاث سلالات مقاومة لجميع المضادات الحيوية التي تم اختيارها.

هذه الدراسة اظهرت ان انتشار بكتيريا مقاومة يتزايد بشكل مثير للقلق في مستشفياتنا و التي تمثل مشكلة علاجية و وبائية خطيرة وبالتالي الحاجة الى انشاء نظام لرصد هذه المشكلة.

**كلمات مفتاحية:** مقاومة المضادات الحيوية, المضادات الحيوية, البكتيريا المعوية, عصيات سالبة الغرام.

## Résumé

L'objectif de cette étude consiste à évaluer la fréquence des entérobactéries isolées à partir de différents produits pathologiques dans différents services hospitaliers de la willaya de Tébessa ainsi que l'évaluation de leur résistance aux antibiotiques testés.

L'identification des souches isolées a été réalisée par les méthodes bactériologiques classiques. Un panel spécifique de 15 antibiotiques a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

A la lumière des résultats obtenus l'isolement bactérien à concerner 60 souches de culture pure des bacilles gram négatifs, 44 entérobactéries ont été identifiées, soit un taux de 73.33%.

En fait, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* ont montrés une prédominance soit un taux de 20.45%, suivi de *Klebsiella pneumoniae* 18.18%.

Ainsi, l'étude de l'antibiorésistance de ces germes isolés a montré qu'il y a une résistance aux antibiotiques des différentes familles, en particulier aux  $\beta$  lactamines et Triméthoprime-sulfamide, avec une efficacité remarquable de l'imipénème, les aminosides et les fluoroquinolone. En revanche trois souches montrent une résistance a tous les antibiotiques testés.

Il convient donc de souligné que l'émergence de la résistance bactérienne augmente de façon inquiétante dans nos établissements hospitaliers qui représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement microbien.

**Mot clés :** L'antibiorésistance, antibiotiques, les entérobactéries, bacilles à Gram négatif.

## Abstract

The objective of this work was to evaluate the frequency of *Enterobacteria* from different pathological product in different hospitals at Tebessa and evaluate their resistance to the antibiotics tested.

The strains were identified by conventional bacteriological criteria. A specific panel of 15 antibiotics was performed by disk diffusion method.

60 Gram-negative bacilli strains were isolated; only 44 *Enterobacteria* were identified including 73.33%. *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* showed a predominance of 20.45%, *Klebsiella pneumoniae* with 18.18%.

The study of antibiotic susceptibility showed that the strains isolated express resistance to antibiotics of different families, especially  $\beta$  lactams and Triméthoprim-sulfamide with remarkable effectiveness of imipenem, aminoglycosides and fluoroquinolone. However, 3 strains express resistance to all families of antibiotics.

The emergence of bacterial resistance is increasing alarmingly in our hospitals, which represents a serious therapeutic and epidemiological problem that`s why we need to set up a system for monitoring the microbial environment.

**Keywords:** Antibiotic resistance, antibiotics, *Enterobacteriaceae*, Gram-negative bacilli

## Remerciements

*« Nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail ».*

*Nous tenons avant tout à exprimer nos remerciements les plus sincères à notre encadreur **Dr. Mechai Abdel basset**, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de cette étude.*

*Nous remercions chaleureusement, notre Co-encadreur de mémoire **Dr. Debabza Manel** pour ses précieux conseils, son soutien, son oreille attentive, sa gentillesse, son dynamisme et son amitié. Merci de nos avoir fait confiance et nos encouragé pour la réalisation de cette étude.*

*Nos vifs remerciements pour les membres du jury à commencer par **Mme. Farhi**. Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.*

*A **Mr. Menasria** d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et de l'attribuer des remarques et des corrections très intéressantes.*

*Un merci particulier à **Mme. Moufida** et à toute l'équipe du laboratoire pour leur aide et leur patience lors de la réalisation de notre travail au sein du laboratoire de microbiologie.*

*A toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail*

## DEDICACES

*Grace a la volonté du dieu, et beaucoup de patience et de  
volonté je dédie ce travail :*

*Aux deux êtres les plus chères au monde, mes parents que dieu les  
gardes*

*A ma sœur Roufaida et mon frère Salah*

*A la mémoire de mes deux grands mères et mon grand père  
maternel.*

*A mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines*

*A mes binômes : DRID Mouna , MERZOUGUI Hassen*

*A mes amies intimes : Hadjer , Chaima , Omaima*

*A toutes la promotion de microbiologie appliqué 2019/2020.*

*A tous ceux qui m'ont aidé dans mes études*

*A tous mes proches, et tous ceux qui m'aiment.*

## DEDICACES

*Je dédie ce travail,*

*À "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail.*

*À mon père « Mounir », qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*À ma mère « Fadila », qui a œuvré pour ma réussite, de par son soutien, tous les sacrifices et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.*

*Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.*

*À mes sœurs : Rima, Sara et Sofia.*

*À mon Fiancé « Fathi » pour tous ses encouragements et son soutien, merci pour tout.*

*À ma chère amie « Naima » avec laquelle j'ai partagé de très bons moments.*

*À mes chères amies « Chaima » et « Oumaima ».*

*À mes collègues Hassen, Rzougua, Walid, Sadek.*

*À toutes la famille Drid et Bendris.*

## DEDICACES

*A vous ma chère mère : HAFSA TAIB*

*Naturellement, ma pensée la plus forte va à ma mère, que dieu lui fasse miséricorde, à qui je dois la vie et une part essentielle de ma personnalité. L'amour que tu m'as donné continue de l'inspirer et me permet de voir l'avenir comme un défi ; je voudrais que tu sois à côté de moi ce jour-là, pour que tu saches que ton fils, qui veut toujours que ton bonheur ait atteint ce que tu désires et pour que tu seras contente d'apprendre que ton fils a enfin terminé le travail qu'il avait commencé. Ma mère tu me manques. Dieu vous bénisse...*

*A vous cher père : ALI*

*Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué puisse Dieu vous accorder santé, longue vie et prospérité. J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous soyez fière de moi, et que je réalise l'un de vos rêves..*

*A mes chers frères :*

*Pour votre respect, soutien, je vous dédie ce travail, que Dieu vous protège.*

*A mes chères sœurs :*

*Pour l'intérêt que vous portez à ma vie, que ce travail soit le témoin de la reconnaissance infinie. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et que je sois toujours le frère qui vous soutiendrez toujours dans la vie.*

*A mes neveux et nièces : OUSSAMA, ASSIL, ASSAR, ROUFIA, RATIL, AYA.*

*Je vous aime mes anges.*

*A toutes la famille : MERZOUGUI, TAIB, BEN ATIYA, DOUH, sans exception*



*A mes binômes : MOUNA et NAIMA vous n'êtes pas juste un binôme, vous êtes mes sœurs, Votre sens du travail d'équipe a toujours retenu mon attention, Aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance, je vous souhaite tout le bonheur et la réussite dans vos vies.*

*A mon ami et mon bras droit : RZOUGA Puisse Dieu prospérer notre amitié jusqu'à la fin de nos jours*

*A ma chère amie et ma chère sœur : SELIM CHAIMA, t'es été parmi les meilleures personnes que j'étais connu dans ma vie, que dieu vous bénisse pour moi et pour ta famille : YOUNESS, MESSAOUDA et mon petit ange : loulou.*

*A mon cher ami AHMED MERAOUMIA je te souhaite tout le bonheur et la réussite*

*A tous mes proches amis : WALID K, ADEM, JALIL « ELBECHTI », ZIKOU A, TAHA, Med ISLEM, RAFIK, KAMEL, AHMED, BILEL, ZIKOU G, Boubou, Nabil D pour leur amour et leurs encouragements, merci beaucoup les frères.*

*A toute mes amis camarades : Farid, Sadek , Baha, Ibrahim, et tous les filles de la classe de master 2 microbiologie appliquée GW de master 2 biochimie appliquée.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce Projet soit possible, je vous dis merci .*

## Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	Page
01	Les caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i>	04
02	Les principaux caractères biochimiques de <i>S. marcescens</i>	10
03	Listes des antibiotiques utilisées	30
04	Répartition des échantillons selon les services et les sites des prélèvements	31
05	Les résultats de l'identification des souches par la galerie API 20E	36
06	Répartition des souches selon type de prélèvements et selon les espèces	40
07	Antibiogramme des souches isolées	44
08	Pourcentage de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries	47
09	Répartition des entérobactéries multirésistantes selon type prélèvements	53

## Liste des figures

N°	Titre de la figure	Page
01	Mécanisme d'action des antibiotiques	15
02	Classification des $\beta$ lactamines	17
03	Mécanisme d'hydrolyse d'une $\beta$ lactamine par une $\beta$ lactamase	18
04	L'application des disques d'antibiotiques sur les boites	29
05	Répartition des prélèvements	32
06	Aspect des colonies sur Mac Conkey	33
07	Aspect des colonies sur Hecktoen	33
08	Aspect microscopique d'une souche isolées	33
09	Répartition des espèces d'Entérobactéries isolées	34
10	Quelques résultats de l'identification par la galerie miniaturisé Api 20E	35
11	Répartition des souches en fonction de services	39
12	Quelques résultats d'antibiogramme des souches isolées	46
13	Sensibilité des antibiotiques des entérobactéries isolées	48
14	Sensibilité aux antibiotiques des souches d' <i>Escherichia coli</i>	49
15	Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	50
16	Répartition des entérobactéries multirésistantes selon type de prélèvements	52
17	Résultats d'antibiogramme des souches toto-résistantes	55

## Liste des abréviations

**%** : Pourcent

**°C** : Degré Celsius

**ADH** : Arginine dihydrolase

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**Ag** : Antigène

**AK** : Amikacine

**AMX** : Amoxicilline

**AMY** : Amygdaline

**API 20E** : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)

**ARA** : L-arabinose

**ATB** : Antibiotique

**ATM** : Aztréonam

**BGN** : Bacille à Gram négatif

**BLSE** :  $\beta$ -lactamase à spectre élargi

**BMR** : Bactérie multirésistante

**C1G** : Céphalosporines de 1ère génération

**C2G** : Céphalosporines de 2ème génération

**C3G** : Céphalosporines de 3ème génération

**CA-SFM** : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

**CAZ:** Ceftazidime

**CIP:** Ciprofloxacine

**CL :**Céfalexine

**COT:** Cotrimoxazole

**CTX:** Céfotaxime

**CTX-M :** Céfotaximase-Muenchen

**CX :** Céfoxitine

**EPH :** Établissement public hospitalier

**GEL :** Gélatinase

**GEN:** Gentamicine

**GES :** Guyana Extended Spectrum bêta-lactamase

**GLU :** Glucose

**H<sub>2</sub>S :** Sulfure d'hydrogène

**I:** Intermédiaire

**IND :** Indole

**INO :** Inositol

**IPM :** Imipénème

**IU :** Infection urinaire

**KES :** *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*

**LAC :** Lactose

**LDC:** Lysine décarboxylase

**m** : mètre

**MAL**: D-maltose

**MAN**: D-mannitol

**MC**: Gélose Mac Conkey

**MH** : Mueller Hinton

**Mm** : millimètre

**NIT** : Nitrate réductase

**nm**: nanomètre

**NO<sub>2</sub>**: Nitrites

**NO<sub>3</sub>**: Nitrates

**ODC**: Ornithine décarboxylase

**OFX**: Ofloxacin

**ONPG**: Ortho-Nitrophényl- $\beta$ -galactosid

**pb**: paire de base

**Péni** : Pénicilline

**PER**: P. Normann, E. Ronco, R. Labia

**PLP**: Protéines Liant les Pénicillines

**PRL** :Pipéracilline

**R**: Résistant

**S** : Sensible

**SAC** : D-saccharose

**SHV:** SulfiHydroxyl Variable

**SOR :** D-sorbitol

**TC:** Ticarcilline

**TDA:** Tryptophane désaminase

**TEM :** Temnoniera

**TTC :**Ticarcilline+Acide clavulanique

**UFC :** Unités formant colonie

**URE :** Uréase

**VEB:** Vietnam Extended Spectrum Bêta-lactamase

**VP:** Voges Proskauer

## Table de matière

	<b>Page</b>
<b>RÉSUMÉ (en Arabe) .....</b>	<b>i</b>
<b>RÉSUMÉ (en Français) .....</b>	<b>ii</b>
<b>RÉSUMÉ (en Anglais) .....</b>	<b>iii</b>
<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>iv</b>
<b>DEDICACES .....</b>	<b>v</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>x</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>xi</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES .....</b>	<b>xv</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
 <b>Partie I : Revue bibliographique</b>  	
<b>Chapitre 01 : Les Entérobactéries</b>	
<b>1. Entérobactérie :.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. <i>Escherichia coli</i>: .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. <i>Yersinia</i> : .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3. Groupe K.E.S:.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3.1. <i>Enterobacter</i>: .....</b>	<b>7</b>
<b>1.3. 2. <i>Klebsiella</i>:.....</b>	<b>8</b>
<b>1.3.3. <i>Serratia</i>:.....</b>	<b>9</b>
 <b>Chapitre 02 : Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries</b>	
<b>1. Résistance aux antibiotiques:.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1. Définition:.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2. Type de résistance : .....</b>	<b>12</b>
<b>1.2.1. Résistance naturelle:.....</b>	<b>12</b>



1.2.2. Résistance acquise: .....	13
1.3. Mécanisme de résistances : .....	13
1.4. Classification et mode d'action: .....	14
2. Définition des $\beta$ -lactamines: .....	16
2.1. Classification et structure des $\beta$ -lactamines: .....	16
2.2. Mode d'action des $\beta$ -lactamines: .....	18
3. Les $\beta$ -lactamases: .....	18
3.1. Définition: .....	18
3.2. Mode d'action: .....	18
3.3. Classification des $\beta$ -lactamases: .....	19
4. les $\beta$ -lactamases à spectre élargi: .....	20
4.1. Définition: .....	20
4.2. Diversité d'enzymes : .....	20

## Partie II : Matériel et méthodes

1. Objectif: .....	22
1.1. Objectif général: .....	22
2. Cadre de l'étude: .....	22
3. Méthodologie du travail : .....	23
3.1. Réalisation du prélèvement: .....	23
3.2. Isolement: .....	24
3.3. Purification: .....	24
3.4. Conservation : .....	25
3.5. Identification biochimique par galerie API 20E: .....	25
3.6. Étude de la sensibilité aux antibiotiques: .....	28

### Partie III : Résultats et discussion

<b>1. Isolats bactériens:</b> .....	<b>31</b>
<b>1.1. Observation macroscopique des isolats:</b> .....	<b>32</b>
<b>1.2. Aspect microscopique:</b> .....	<b>33</b>
<b>2. Identification des souches :</b> .....	<b>34</b>
<b>2.1. Répartition des souches en fonction des services :</b> .....	<b>39</b>
<b>2.2. Répartition des souches selon le type de prélèvement et selon l'espèce:</b> .....	<b>40</b>
<b>3.Étude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques :</b> .....	<b>44</b>
<b>3.1. La résistance d' <i>Escherichia coli</i> uropathogène :</b> .....	<b>49</b>
<b>3.2. La résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> uropathogène :</b> .....	<b>50</b>
<b>4. Les Entérobactéries multirésistantes</b> .....	<b>52</b>
<b>5. Les Entérobactéries Pan- résistantes :</b> .....	<b>54</b>
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	<b>56</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>58</b>

#### Annexes

# Introduction

## **INTRODUCTION**

Les antibiotiques sont l'une des plus importantes découvertes du XX<sup>e</sup> siècle. Si l'apparition de ces antibiotiques avait suscité un espoir de voir la maladie infectieuse à jamais, les prescripteurs furent déçus rapidement par l'apparition des bactéries résistantes (**Lemaoui et al., 2017**).

Les bactéries ont acquis au cours des derniers temps une résistance aux antibiotiques actuellement employées. Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries sont les plus redoutables car elles sont productrices de  $\beta$ -lactamases et possèdent d'autres mécanismes de résistances de nombreux antibiotiques. La concentration importante de ces germes dans le tube digestif, favorise l'échange et la dissémination des gènes de résistance (**Ebongue et al., 2015**).

Les deux déterminants de l'émergence et de la diffusion de la résistance bactérienne aux antibiotiques sont : l'exposition de la population aux antibiotiques et la transmission inter-individuelle et par l'environnement de souches résistantes. La surveillance est essentielle pour connaître l'ampleur du problème et surveiller l'impact des programmes de lutte contre la résistance (**Ouedraogo et al., 2017**).

L'émergence de la résistance aux antibiotiques engendre de graves conséquences sanitaires et économiques. Elle est responsable d'une augmentation de la morbidité et de la mortalité, de la durée d'hospitalisation et conduit à utiliser des médicaments plus onéreux et souvent plus toxiques (**Ouedraogo et al., 2017**).

Aujourd'hui, les progrès qu'on croyait avoir réalisés dans la lutte contre les bactéries sont anéantis par la résistance aux antibiotiques. Ce phénomène est devenu alarmant, pouvant conduire à des problèmes de prise en charge et d'impasse thérapeutique pour le traitement des patients et accroissement du taux de mortalité la situation est d'autant plus alarmant pour les entérobactéries dont la prolifération de leur résistance pose un grave problème de santé publique à l'échelle mondiale; un problème dont les conséquences pourraient bien s'avérer irréversible.

Pour cette raison, nous nous sommes intéressés à réaliser cette étude. Tout en visant les objectifs suivants:

- Isolement et identification des entérobactéries.
- Évaluation de la fréquence des infections à entérobactéries.
- Évaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries.
- Discuter l'émergence des entérobactéries multirésistantes responsables de pathologie humaine.

La première partie de ce document portera principalement sur la revue de la littérature sur l'étude bactériologique des entérobactéries, les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques et les données épidémiologiques. La deuxième partie présentera le matériel et les méthodes expérimentales utilisées. La troisième partie portera sur l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent. Nous terminerons ce travail par une quatrième partie qui sera consacrée à la conclusion et les perspectives de recherche à venir.

**Partie I :**  
**Revue**  
**bibliographique**

# **Chapitre 01 :**

# **Les Entérobactéries**

## 1. Entérobactérie :

Les entérobactéries souvent opportunistes et responsables d'infections nosocomiales, leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, leur rapidité de multiplication et leur fréquente résistance aux antibiotiques expliquent le fait qu'elles soient les bactéries les plus impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier. Les entérobactéries sont les germes le plus souvent isolées dans les IU d'où on les a nommées uropathogène (**Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016**).

Cette famille bactérienne hétérogène, composée d'une vingtaine de genres et de plusieurs dizaines d'espèces (**Joly et Reynaud, 2002**). Qui sont rassemblés en raison des caractères bactériologiques communs: Bacilles ou coccobacilles à Gram négatif; Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles; Non exigeants ; Aérobie-anaérobie facultatif ; fermentant le glucose avec ou sans production de gaz ; Nitrate réductase positive ; Oxydase négatif; Catalase positif; Non sporulés (**Bousseboua, 2005**).

### 1.1. *Escherichia coli*:

*E. coli* (colibacille) est l'espèce type du groupe des *Enterobacteriaceae*, est potentiellement pathogène pour l'homme; responsable d'infections spontanées des voies urinaires et de gastro-entérites, il est aussi responsable d'infections nosocomiales (**Dembelle, 2006**).

*Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (**Jean et al., 2018**).

#### a) **Habitat:**

Bactérie commensale du tube digestif, *E. coli* est l'espèce la plus importante des anaérobies facultatifs de l'intestin. La présence d'*E. coli* dans l'eau est témoin d'une contamination fécale qui la rend impropre à la consommation (colimétrie), pathogène indiscutable pour l'homme et l'animal (**Kapeer et al., 2004**).



**b) Caractère bactériologique:****➤ Caractères morphologiques et culturaux:**

*Escherichia coli* fait partie des Entérobactéries, c'est une bactérie fine et allongée, bacille à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif, asporulée, mesurant 2 à 4µm de long sur 0,4 à 0,6 µ de large, mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe non exigeant, Culture facile sur milieux ordinaires. Sur milieux solides après 18-24 h les colonies sont arrondies, lisses, brillantes et homogènes, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre. Pousse sur milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac Conkey, Drigalski (**Mendaci et Mihoubi, 2015**)

**➤ Caractère biochimiques:**

L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries qui permettent l'identification ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille (**Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016**). Ces caractères sont regroupés dans le Tableau 01.

**Tableau 01:** Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* (**Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016**).

Test	GLU	LAC	H2S	GAZ	CS	ONPG	GEL	MAL	NIT	LDC	ODC	ADH	URE	TDA	IND	RM	VP	ESC
Résultat	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	+	+	-	-

**c) Caractère antigénique:**

L'étude de cette structure antigénique est très utile car certains sérotypes ont un pouvoir pathogène particulier. KAUFMAN a distingué trois variétés d'antigène, O, H, K (**Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016**).

**• Antigènes somatiques O:**

les antigènes O sont des facteurs somatiques composées de complexes de phospholipides-polysaccharides. On différencie ces antigènes selon la nature de leurs groupes terminaux et leur ordre dans la chaîne polysaccharidique (**Lymberopoulos, 2004**).

- **Antigènes flagellaires H:**

Les antigènes H ne servent pas à l'identification des *E. coli* pathogènes mais présentent un grand intérêt du point de vue épidémiologique : l'identité de l'antigène H constitue un élément pour assurer qu'il s'agit d'une même souche, ils sont de nature protéique; on en connaît 52 types, ils ne sont présents que chez les souches mobiles (Marc *et al.*, 1999 ; Avril *et al.*, 2000).

- **Antigènes capsulaires K:**

**1. L'antigène L :** est le plus fréquent mais est thermolabile, donc le chauffage provoque une perte du pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O (Pohl *et al.*, 1998).

**2. L'antigène A :** est rare, c'est un antigène capsulaire (les *Escherichia coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire) (Pohl *et al.*, 1998).

**3. L'antigène B :** est toujours présent chez les *E. coli* entéro-pathogènes de gastro-entérite infantile. Il a une thermolabilité intermédiaire : après une demi-heure à 100°C il reste toujours de l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par « trouage » de l'enveloppe, la fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage) (Pohl *et al.*, 1998).

**d) Pouvoir pathogène :**

La plupart sont commensales, mais certaines souches possèdent des facteurs de virulence qui leur permettent de déclencher des diarrhées. *Escherichia coli* est une cause majeure de diarrhée aigue dans le monde. A côté des infections intestinales, elle est responsable d'infections extra-intestinales diverses: urinaires, abdominale, méningées et les bactériémies (Souana, 2011).

## 1.2. *Yersinia* :

Le genre *Yersinia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Il comprend plusieurs espèces, dont trois sont virulentes chez l'homme : *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica* et *Yersinia pseudotuberculosis*. Ces bactéries sont agents de zoonoses, l'homme étant un hôte occasionnel (Bourée et Ensaf, 2007 ; Pilly, 2006).

**a) Caractères bactériologiques :****➤ Caractère morphologiques et culturaux:**

Les *Yersinia* sont des bacilles à coloration bipolaire, parfois coccobacillaires, immobiles à 37°C, présentant une mobilité péritriche au-dessous de 30 °C.

L'isolement du germe par culture s'effectue à partir d'hémocultures, de selles et de ganglions mésentériques. Les éléments importants de l'identification sont liés à l'immobilité du germe à 37°C, à la mobilité au-dessous de 29 °C et au caractère uréase positif (**Bourée et Ensaf, 2007 ; Pilly, 2006**).

**➤ Caractères biochimiques**

Ils possèdent une intense activité uréasique, sauf *Y. pestis*. Leur grand besoin en fer explique la fréquence des infections en cas d'hémochromatose (**Bourée et Ensaf, 2007 ; Pilly, 2006**).

**b) Caractères antigéniques:**

L'espèce *Yersinia pseudotuberculosis* comprend six sérotypes (I à VI), le sérotype I étant le plus fréquent. Chez *Yersinia enterocolitica*, 34 antigènes O et 20 antigènes H ont été décrits. La classification s'effectue sur les antigènes somatiques. Le sérotype O:3 est le plus fréquent en Europe, suivi des sérotypes O:9 et O:5. La sérologie des *Yersinia* est réalisée par agglutination en microplaque des antigènes somatiques obtenus à partir de suspensions bactériennes tuées de *Yersinia enterocolitica* de sérotype O:3, O:5, O:9 et de *Yersinia pseudotuberculosis* sérotypes I à V (**Bourée et Ensaf, 2007 ; Pilly, 2006**).

**a) Pouvoir pathogène :**

Le pouvoir pathogène des *Yersinia* repose sur la présence du plasmide pYV, portant plusieurs gènes de virulence communs à toutes les *Yersinia* pathogènes.

*Yersinia enterocolitica* et *Yersinia pseudotuberculosis* sont responsables d'infections aiguës, à type d'adénite mésentérique et de gastroentérite, particulièrement chez les sujets jeunes, et de manifestations articulaires et dermatologiques secondaires (**Bourée et Ensaf, 2007 ; Pilly, 2006**).

**1.3. Groupe K.E.S:**

Les bactéries du groupe K.E.S sont très répandues dans la nature, ces organismes ont des propriétés très semblables et sont habituellement distingués sur la base de plusieurs réactions biochimiques et de la motilité (**Iabadene et al., 2009**).

Les bactéries du groupe K.E.S ont en commun les caractères suivants :

- ✓ Ce sont des bactéries pathogènes opportunistes Peu virulentes par elles-mêmes. Elles sont surtout responsables d'infections hospitalières nosocomiales chez des malades débilisés : cirrhotiques, diabétiques, brûlés, cancéreux, vieillards, malades de réanimations et les nourrissons.
- ✓ La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive.
- ✓ Ces espèces sont souvent multirésistantes aux antibiotiques (Avril *et al.*, 2000).

### 1.3.1. *Enterobacter*:

Les espèces rencontrées en bactériologie médicale sont: *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. gergoviae*, *E. sakazakii*, *E. asburiae* et *E. intermedius* (Avril *et al.*, 2000). *Enterobacter cloacae* complexe et *Enterobacter aerogenes* représentent les espèces les plus rencontrées en milieu clinique (Grimont et Grimont, 2006).

#### a) Habitat:

Les espèces du genre *Enterobacter* peuvent être trouvées dans l'environnement naturel tel que le sol, l'eau et la végétation, également dans une vaste gamme de produits alimentaires (Lehner, 2011). *Enterobacter cloacae* complexe et *Enterobacter aerogenes* représentent les espèces les plus rencontrées en milieux hospitaliers; ont été isolées comme des polluants communs de diverses surfaces inertes, des équipements de préparation et du matériel médicochirurgicaux. Aussi bien que les mains et les vêtements de personnel médical (Lehner, 2011).

#### b) Caractère bactériologique:

##### ➤ Caractère morphologique et culturaux:

Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles droits à Gram négatif, ils se présentent de manière isolée, groupée, ou en courtes chainettes ; mobiles par des flagelles péritriches et asporogènes. Le GC % de leur ADN est de 52 à 60 % des souches d'*Enterobacter aerogenes* isolées sont entourées par une capsule, la capsule est d'habitude plus mince que celle de *Klebsiella* (Grimont et Grimont, 2002 ; Lehner, 2011).

L'isolement d'*Enterobacter spp.* se fait sur les milieux classiques du laboratoire utilisés pour l'isolement des entérobactéries (Drigalski, éosine bleu de méthylène, MacConkey et Hecktoen), forment après 18 à 24 heures des colonies rondes, légèrement irisées ou mates, sèches ou mucoïdes et avec des contours irréguliers. Des virements de couleur sur le milieu sont observés suite à la fermentation du lactose chez 80% des souches (Lehner, 2011).

➤ **Caractères biochimiques:**

Les espèces de ce genre présentent les mêmes caractères biochimiques généraux des entérobactéries, elles fermentent le glucose avec production d'acide et de gaz, elles sont rouge méthyle négatives, oxydase négatives, catalase positives et VP positives (Grimont et Grimont, 2002 ; Lehner, 2011).

c) **Pouvoir pathogène :**

*Enterobacter* est une bactérie pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses. (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

**1.3. 2. Klebsiella:**

Les bactéries du genre *Klebsiella*. On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques. Elles expriment des antigènes K, capsulaires utilisables comme marqueurs épidémiologiques. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae* (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

a) **Habitat:**

Les espèces du genre *Klebsiella* sont ubiquistes. *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont répandues dans la nature. On peut les isoler de l'eau, de végétaux, d'aliments divers. Ces deux espèces sont rencontrées dans la flore fécale des animaux et de l'homme. On peut les rencontrer aussi à l'état commensal sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures). Le portage digestif de *Klebsiella* est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale. Sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement dans les services hospitaliers, la présence de *Klebsiella* est très fréquente (Boughachiche et Sebais, 2016).

**b) Caractères bactériologiques:****➤ Caractères morphologiques et culturaux:**

Les *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif (coloration bipolaire fréquente), toujours immobiles, de dimensions comparables à celles d'*E. coli*, très souvent encapsulées (**Boughachiche et Sebais, 2016**).

Sur les milieux classiques d'isolement pour les entérobactéries (Drigalski, EMB, Hektoen, Mac Conkey), en 18 à 24 heures à 37°C (**Boughachiche et Sebais, 2016**).

**➤ Caractères biochimiques**

Les *klebsiella* sont des bactéries ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives, bêta-glucuronidase négative. N'hydrolysant ni l'ADN ni le Tween 80, ne produisant pas d'hydrogène sulfuré et fermentant de nombreux sucres dont l'inositol. Réaction de Voges-Proskauer positive (VP+) et uréase + (**Boughachiche et Sebais, 2016**).

**c) Pouvoir pathogène:**

*K. pneumoniae* est responsable d'infections spontanées dans 25 % des cas, mais surtout d'infections nosocomiales notamment chez des patients hospitalisés. Elle est aussi responsable d'infections diverses : infections suppuratives, urinaires, respiratoires, hépatiques intra-abdominales, bactériémies, fasciites nécrosantes...

Elles sont responsables d'infections urinaires au 2ème rang après *E. coli*, d'infections respiratoires de bactériémies et d'infections neuro-méningés post traumatiques ou post chirurgicales. Les isolements sont beaucoup plus fréquents à l'hôpital, et particulièrement dans les services de réanimation (**Abdelmalek et Lezzar , 2016**).

**1.3.3. Serratia:**

Le genre *Serratia* comprend maintenant dix espèces: *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia proteomaculans*, *Serratia grimesii*, *Serratia polymuthica*, *Serratia rubidaea*, *Serratia odorifera*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, et *Serratia entomophila* (**Sekhsokh et al., 2007**).

**a) Habitat:**

D'une manière générale, les espèces du genre *Serratia* sont isolées des plantes, du tube digestif des petits mammifères sauvages notamment les rongeurs, d'insectes, d'eau et du sol. *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* ne représente que 10% des isolats du milieu extérieur mais cette espèce est fréquemment présente dans l'environnement hospitalier (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

**b) Les caractères bactériologiques:****➤ Caractères morphologiques et cultureux:**

Les *Serratia* sont généralement mobiles. Elles donnent parfois des colonies pigmentées en rouges (elles sont rares en milieu hospitalier). Les espèces du genre *Serratia* sont des bacilles Gram négatif parfois assez fins, dont la longueur est intermédiaire entre celle des *E. coli* et celle des *Salmonella*, *Shigella*, et *Proteus* (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

**➤ Caractères biochimiques:**

Les caractères biochimiques sont présentés dans le tableau 02:

**Tableau 02:** Les principaux caractères biochimiques de *S. marcescens* (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

Test	Caractères
Glucose	+
Lactose	-
ONPG	+
Indole	-
VP	+
RM	-

**a) Pouvoir pathogène:**

Les *Serratia* sont peu pathogènes pour les sujets sains mais elles sont responsables d'infections hospitalières parfois épidémiques, particulièrement *S. marcescens*. En dehors des infections acquises à l'hôpital, des infections graves à *Serratia* (endocardites, ostéomyélites) ont été observées chez les héroïnomanes. *S. plymuthica* et *S. ficarcia* n'ont pas de pouvoir pathogène connu pour l'homme (**Abdelmalek et Lezzar, 2016**).



# **Chapitre 02 :**

## **Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries**

## 1. Résistance aux antibiotiques:

Les antibiotiques constituent un important groupe de médicaments pour la médecine. À côté de leurs propriétés de lutter contre les infections humaines dues aux bactéries pathogènes (Emmanuel, 2003).

Le succès fulgurant des premiers traitements anti-infectieux a fait considérer un peu hâtivement le problème des maladies infectieuses comme définitivement réglé. Mais, rapidement, l'enthousiasme a décliné avec l'apparition des premières résistances des bactéries aux antibiotiques. À chaque nouvel antibiotique introduit en thérapeutique, les bactéries ont su s'adapter et résister plus ou moins vite (Ploy *et al.*, 2005). Ces résistances peuvent avoir un spectre étroit, limité à un ou quelques antibiotiques de structure voisine, mais on observe depuis plusieurs années l'émergence de mécanismes de résistances croisées (La résistance croisée correspond à la résistance à tous les membres d'une classe d'antibiotiques due à un seul mécanisme de résistance.) à des drogues de structures et de modes d'actions différents (Walsh, 2000). Apparaissent aujourd'hui de véritables « monstres » bactériens résistants à tous les antibiotiques potentiellement actifs (Ploy *et al.*, 2000).

### 1.1. Définition:

- ✓ Une bactérie est dite résistante lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique nettement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres bactéries de la même espèce (Carl, 2009).
- ✓ Une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de cet antibiotique au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou de la tuer (Lagha, 2015).

### 1.2. Type de résistance :

Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques, la résistance intrinsèque et la résistance acquise:

#### 1.2.1. Résistance naturelle:

La résistance intrinsèque (ou naturelle ou insensibilité) est présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle délimite le spectre d'action des antibiotiques. Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les bacilles à Gram

négatif entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (Courvalin, 2007).

### 1.2.2. Résistance acquise:

La résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre. Le motif commun à ces différents mécanismes de résistance est d'empêcher l'interaction de l'antibiotique avec sa cible (Courvalin, 2007).

Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes. Soit des mutations dans le génome, on parlera alors de transmission verticale à la descendance, soit l'acquisition d'information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries, par transfert horizontal (Courvalin, 2007).

### 1.3. Mécanisme de résistances :

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant :

#### Inactivation enzymatique de l'antibiotique:

L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible (Muylaerta et Mainil, 2012).

#### Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique:

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité (Muylaerta et Mainil, 2012).

#### Pompes à efflux:

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires pompes à efflux, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, pour expulser à l'extérieur des composés étrangers tels que des antibiotiques (Muylaerta et Mainil, 2012).

#### Perméabilité réduite:

Les bactéries gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable. Les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des

protéines transmembranaires nommées porines. En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines conduisent à leur perte, la réduction de leur taille, une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques (Muylaerta et Mainil, 2012).

Protection de la cible de l'antibiotique:

On ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome (Muylaerta et Mainil, 2012).

Piégeage de l'antibiotique:

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique par l'augmentation de la production de sa cible, la production d'une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles (Muylaerta et Mainil, 2012).

#### 1.4. Classification et mode d'action:

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire sur une ou plusieurs étapes métaboliques (Figure 01) indispensables à la vie de la bactérie (Yala et al, 2001), ils exerceraient leur action qui pourra être de deux types de modalité : bactériostatique, s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance bactérienne ; bactéricide, s'il y a mort de la bactérie (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

Les quatre cibles principales sont :

- **La paroi** : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne ( $\beta$ -lactamines, glycopeptides, fosfomycine). Empêchent la réaction de transpéptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane. Ceci entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire, notamment chez les Gram positif, les bactéries Gram négatives ont tendance à être moins sensibles à la pénicilline car leur enveloppe externe empêche l'antibiotique d'atteindre la couche de peptidoglycane de la cellule (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

- **La membrane cytoplasmique** : inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines non actifs sur les Gram +). La polymyxine et la tyrocidine sont tous deux, des antibiotiques polypeptidiques qui altèrent les membranes cellulaires. (Abdelmalek et Lezzar, 2016).
- **Le chromosome** : inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones). Les quinolones inhibent l'ADN gyrase et interfèrent ainsi avec la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN (Abdelmalek et Lezzar, 2016).
- **Le ribosome** : inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides). Les antibiotiques antibactériens qui inhibent la synthèse protéique, le font par fixation au ribosome bactérien (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

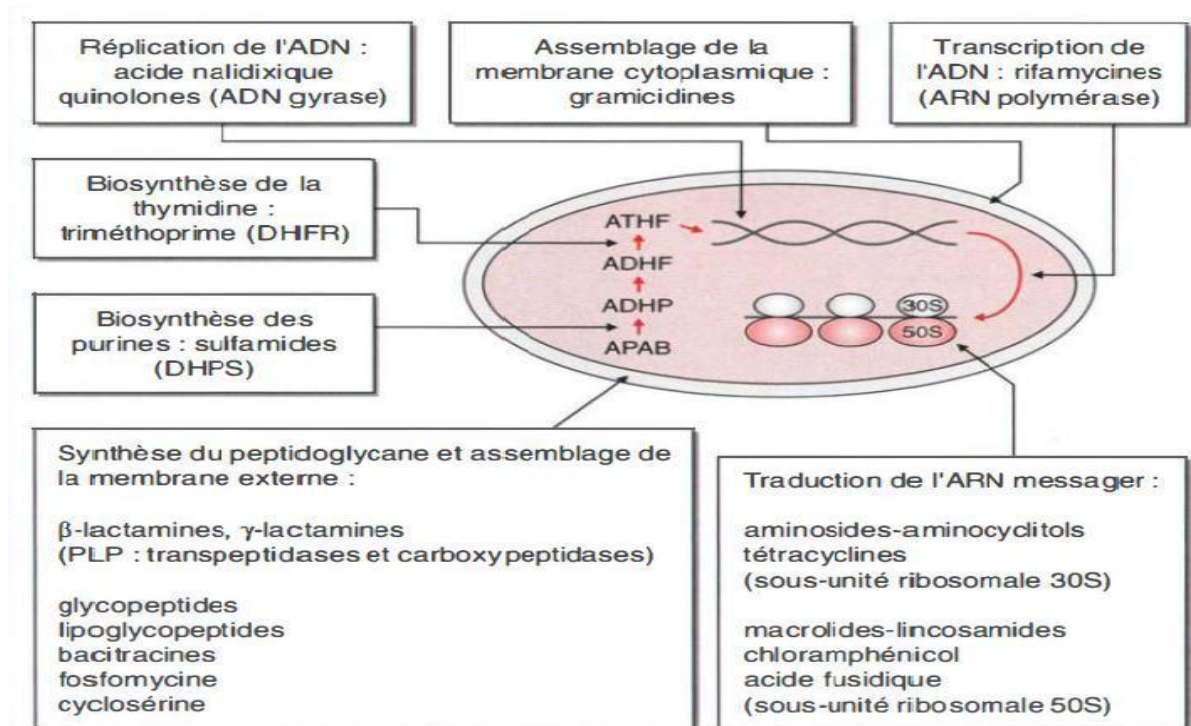


Figure 01: Mécanisme d'action des antibiotiques (Paul H. Roy, 1997).

## 2. Définition des $\beta$ -lactamines:

Les  $\beta$ -lactamines demeurent à l'heure actuelle les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections dues aux entérobactéries. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à l'extrême diversité de leurs structures (Philippon, 2008 ; Robin *et al.*, 2012). Ce nom est du au fait que tous les membres de cette classe portent une fonction lactame en position  $\beta$  (Souana, 2011).

### 2.1. Classification et structure des $\beta$ -lactamines:

Les  $\beta$ -lactamines, qu'elles soient naturelles ou produites par hémisynthèse, sont classées en fonction de la nature du noyau entrant dans leur structure de base (Figure 02), qui comporte toujours le cycle  $\beta$ -lactame, cette structure permet de répartir ces produits en trois groupes (Cavallo *et al.*, 2004).

#### a) Les dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique:

Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle thiazolidine (figure), spécifique des pénicillines (Cavallo *et al.*, 2004).

##### ➤ Pénames (ou pénicillines):

Il s'agit d'une vaste famille de produits ayant en commun le noyau péname qui est caractérisé par un pentacycle saturé associé au noyau  $\beta$ -lactame (Yousfi, 2010).

##### ➤ Carbapénèmes:

Ils sont caractérisés par un noyau pénème et dérivent de la thiénamycine, produite naturellement par *Streptomyces cattleya*. L'atome de soufre du pentacycle péname est remplacé par un atome de carbone pour donner un noyau pénème (Cavallo *et al.*, 2004).

##### ➤ Oxapénames ou clavames:

Le noyau clavame (oxapéname) dérive du noyau péname par substitution du soufre en position 1 par un oxygène. Le seul représentant actuellement utilisé en clinique est l'acide clavulanique qui a une activité antibactérienne, mais c'est surtout un inhibiteur de différentes  $\beta$ -lactamases de la classe moléculaire A (Cavallo *et al.*, 2004).

### b) Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique:

Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former l'acide 7-aminocéphalosporanique et permet de distinguer les céphalosporines des pénicillines (El-Shaboury *et al.*, 2007).

#### ➤ Céphalosporines:

Le noyau central céphème associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle dihydrothiazine (en position 1 on trouve un atome de soufre) (Cavallo *et al.*, 2004).

#### ➤ Oxacéphèmes:

L'atome de soufre en position 1 du noyau céphème est remplacé par un atome d'oxygène. La présence de ce noyau dihydro-oxazine (oxacéphème) permet une meilleure pénétration à travers la paroi des bacilles à Gram négatif (Cavallo *et al.*, 2004).

### c) Monobactames:

Leur noyau se caractérise par la présence du noyau monocyclique, azétidine. L'aztréonam est le représentant des monobactam est un antibiotique résistant aux  $\beta$ -lactamases et inhibiteur de céphalosporinases. Il est actif sur un nombre élevé d'*Enterobacteriaceae*, de *Pseudomonas* et de la plupart des cocci Gram négatifs (Moulin et Coquerel, 2002).

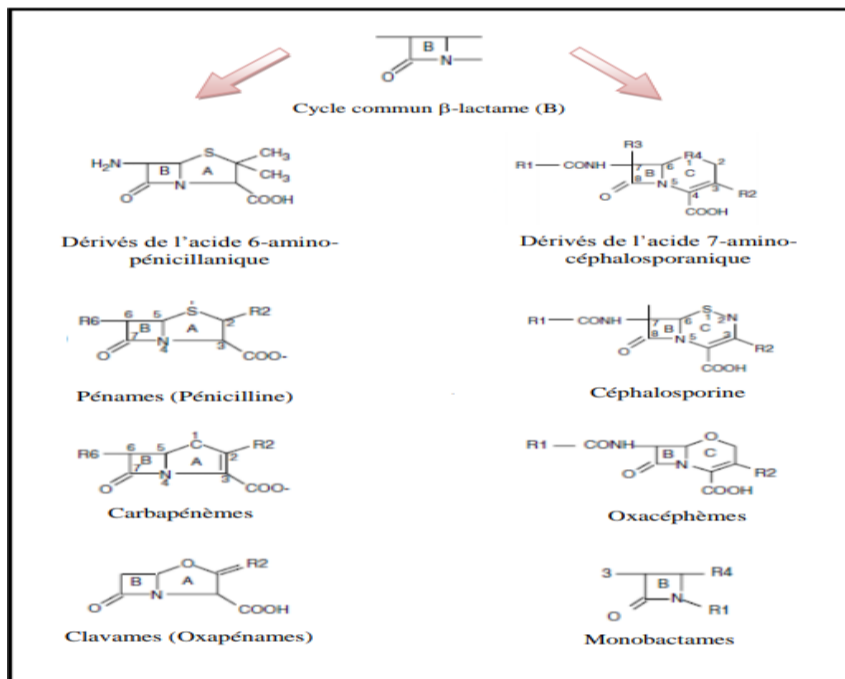


Figure 02: Classification des  $\beta$ -lactamines (Cavallo *et al.*, 2004)

## 2.2. Mode d'action des $\beta$ -lactamines:

Les  $\beta$ -lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane (polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et positif). Les cibles des  $\beta$ -lactamines sont des enzymes situées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne et appelées PLP. Ces enzymes correspondent aux transpeptidases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. La fixation des  $\beta$ -lactamines sur ces PLP est responsable de l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane (Cavallo *et al.*, 2004).

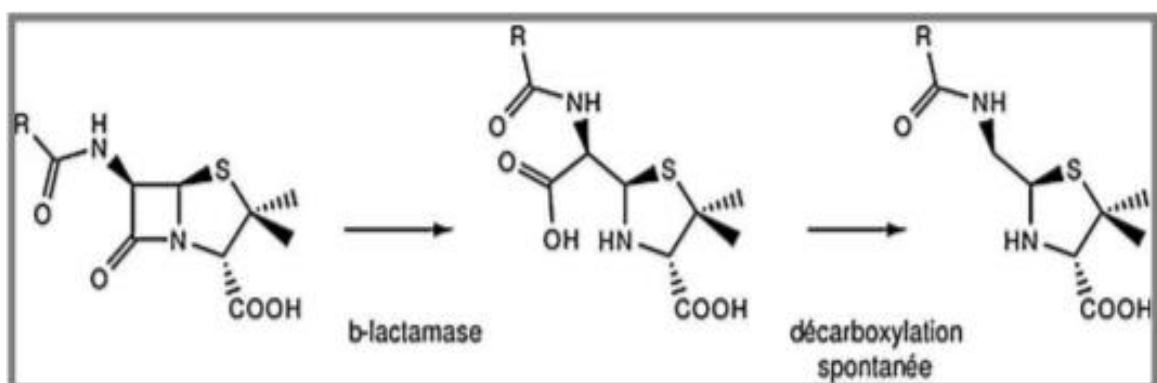
## 3. Les $\beta$ -lactamases:

### 3.1. Définition:

Les  $\beta$ -lactamases sont des enzymes d'inactivation hydrolysant le pont amide du cycle  $\beta$ -lactame pour donner un acyl-enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif. Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries à Gram négatif (Souana, 2011).

### 3.2. Mode d'action:

Les  $\beta$ -lactamases ont une structure proche des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane de la bactérie. Le mode d'action des  $\beta$ -lactamines sur une bactérie sensible consiste à entraîner une erreur des peptidases aboutissant à un défaut de synthèse du peptidoglycane. Pour éviter que les peptidases ne se «trompent», la bactérie synthétise une  $\beta$ -lactamase qui va hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame (Figure 03). Son ouverture va empêcher sa reconnaissance par la peptidase et donc la synthèse du peptidoglycane est possible: la multiplication bactérienne n'est alors pas affectée



(Lavigne *et al.*, 2002).

Figure 03: Mécanisme d'hydrolyse d'une  $\beta$ -lactamine par une  $\beta$ -lactamase (Ruppé, 2010).



### 3.3. Classification des $\beta$ -lactamases:

Aujourd'hui, les classifications d'Ambler et de Bush-Jacobi-Medeiros sont considérées comme étant les plus pertinentes (Lavigne *et al.*, 2002).

➤ **Classification de Bush:**

Établie selon les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse, dans laquelle les auteurs divisent ces enzymes en quatre groupes (1 à 4) avec plusieurs sous-groupes (Lagha, 2015).

➤ **Classification d'Ambler:**

Repose sur la similarité des séquences entre les différents membres des  $\beta$ -lactamases. De plus, elle reflète les relations fondamentales de chaque  $\beta$ -lactamase et ne change pas à cause des mutations, dans laquelle se compose de quatre groupes, soit les  $\beta$ -lactamases de classe A, B, C et D. Les enzymes de classe A, C et D sont dites à sérine active tandis que celles de classe B sont appelées métallo- $\beta$ -lactamases (carbapénèmases) (Lagha, 2015).

• **Les  $\beta$ -lactamases de classe A:**

Les  $\beta$ -lactamases de classe A, d'origine chromosomique ou plasmidique, se caractérisent par leur capacité à hydrolyser l'amide cyclique lié à la molécule de  $\beta$ -lactame. Cette activité hydrolytique, assurée par une sérine conservée (Ser-70) - induit la formation d'acide penicilloïque pour la pénicilline et de céphalosporoate pour les céphalosporines. Cette sérine est retrouvée dans le site actif de la  $\beta$ -lactamase qui se compose d'hélices  $\alpha$  entourées de cinq feuilletts  $\beta$  anti-parallèles et assure un fort taux de résistance aux pénicillines, céphalosporines et carbénicillines. Toutefois, les  $\beta$ -lactamases de classe A sont généralement sujettes à l'inhibition par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (Lagha, 2015).

• **Les  $\beta$ -lactamases de classe B:**

Les  $\beta$ -lactamases de classe B sont des métallo- $\beta$ -lactamases et utilisent un ion de zinc ( $Zn^{2+}$ ) comme cofacteur permettant ainsi la décomposition de l'anneau  $\beta$ -lactame

L'importance clinique des métallo-bêta-lactamases est liée au fait qu'elles hydrolysent les carbapénèmes, composés qui échappent à l'activité des bêta-lactamases à sérine active. La plupart des métallo-bêta-lactamases hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines, et sont insensibles aux inhibiteurs suicides classiques (Lagha, 2015).

- **Les  $\beta$ -lactamases de classe C:**

Les  $\beta$ -lactamases de classe C, ont longtemps été ubiquitaires aux chromosomes de différentes espèces bactériennes entériques.

Dans cette classe, on retrouve les céphalosporinases AmpC qui sont codées par des gènes qui étaient primitivement situés sur le chromosome de nombreuses bactéries à Gram négatif. Les gènes codant pour ces enzymes sont aussi présents chez *E. coli*, où ils ne sont pas inductibles. Ces enzymes sont résistantes à l'acide clavulanique (**Lagha, 2015**).

- **Les  $\beta$ -lactamases de classe D:**

Les  $\beta$ -lactamases de classe D se distinguent par leur capacité à hydrolyser les pénicillines isoxazolyl (oxacilline) et la méthicilline, et qui sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique (**Lagha, 2015**).

#### **4. les $\beta$ -lactamases à spectre élargi:**

##### **4.1. Définition:**

Les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (C1G, C2G, C3G et C4G) et l'aztréonam. Les gènes de structure sont portés par des éléments génétiques mobiles tels que de grands plasmides (100 kb ou plus), intégrons ou transposons. Ces éléments sont transférables entre souches de la même espèce ou entre espèces (**Rodriguez-Villalobos et Sturelens, 2006**).

##### **4.2. Diversité d'enzymes :**

Elles sont classées selon leurs types moléculaires, les plus fréquents étant les types TEM, SHV, CTX-M (**Lagha, 2015**).

- **TEM (Temoneira - nom du patient) :**

La première  $\beta$ -lactamase plasmidique de type TEM (TEM-1) a été isolée, à partir d'une souche d'*E. coli* isolée chez une patiente nommée Temoneira, d'où la nomination. La majorité des BLSE de ce type dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2). Les substitutions les plus courantes sont entre un ou plusieurs acides aminés qui peuvent entraîner une importante modification de l'affinité de l'enzyme (**Lagha, 2015**).

- **SHV : (Sulfhydryl variable)**

Les enzymes BLSE de type SHV dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1, caractérisée par la substitution d'acides aminés (Lagha, 2015).

➤ **CTX-M (Céfotaximase-Munich) :**

Le groupe CTX-M (pour céfotaximase) conférait à l'origine, chez les entérobactéries, Ces nouvelles BLSE ne sont pas étroitement liées aux  $\beta$ -lactamases de type TEM ou SHV puisqu'elles ne présentent que 40 % d'homologie avec ces BLSE classiques (Lagha, 2015).

➤ **Autres types de BLSE :**

D'autres BLSE ont une distribution moins large, qui sont individualisées en BES-1 (*brazilian extended spectrum*), GES-1 (*Guyana extended spectrum*), PER-1 (*Pseudomonas extended resistance*), SFO-1 (*Serratia fonticola*), TLA-1 (Tlahuicas, tribu mexicaine), et VEB-1 (*Vietnam extended spectrum*). En fin, l'OXA-1 qui a une grande activité catalytique pour la cloxacilline, l'oxacilline et la méticilline (Lagha, 2015).

# **Partie II : Matériel et méthodes**

## **1. Objectif:**

### **1.1. Objectif général:**

Évaluer la résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées de différents produits pathologiques

### **1.2. Objectifs spécifiques:**

- Identifier les bactéries à partir de différents prélèvements provenant des différents services.
- Déterminer la fréquence des infections nosocomiales dans les services.
  
- Déterminer le profil de sensibilité aux antibiotiques des germes isolés de plusieurs services le plus souvent en cause dans les infections nosocomiales.

## **2. Cadre de l'étude:**

Notre travail s'est étalé sur une période de trois mois, allant de 4 février 2019 au 30 Avril 2019. Ce travail représente une étude prospective, portant sur 60 souches d'Entérobactéries isolées à partir de différents prélèvements qui ont été réalisés, dans différents services (laboratoire à partir des patients externes faisant leurs analyses, réanimation, bloc opératoire, dialyse, service des maladies infectieuses, chirurgie femme, maternité (GHR et gynécologie), orthopédie, oncologie) de trois établissements publics hospitaliers (EPH) et un laboratoire d'analyse privé, situés dans différentes communes de la Wilaya de Tébessa :

- **Khaldi Abdelaziz (Tébessa)**
- **Polyclinique Alia Saleh (Tébessa)**
- **Hôpital Bouguerra Boulaares (Bekkaria)**
- **Laboratoire privé Ziadi**

Les différentes manipulations microbiologiques ont été respectivement réalisées dans le laboratoire de microbiologie à l'université de Tébessa et dans le laboratoire de l'hôpital Bouguerra Boulaares (Bekkaria).

### **3. Méthodologie du travail :**

#### **3.1. Réalisation du prélèvement:**

-Les prélèvements provenant de différents produits pathologiques (urines, pus, prélèvement vaginale, sang) ont effectué selon la technique appropriée:

a) Prélèvement des urines :

L'urine doit être recueillie dans un récipient stérile. Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée au savon ou antiseptique doux de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme suivi d'un rinçage, éliminer le premier jet (environ les 20 premiers millilitres) d'urines pour ne recueillir dans le récipient stérile que les urines du deuxième jet en prenant soin de ne pas toucher les bords supérieurs du récipient (**Bouakkaz et Boucherbit, 2017**). Le transport au laboratoire doit être effectué dans des conditions adéquates, en respectant la durée et la température (moins de 2 heures et à température ambiante) afin d'éviter une éventuelle contamination qui par la suite gênera l'interprétation (**Bruyère et al., 2008**). Pour éviter la multiplication bactérienne, la mise en culture doit être adressée rapidement au laboratoire ou une conservation de l'échantillon à 4°C doit être utilisée (**Bouakkaz et Boucherbit, 2017**).

b) Prélèvement vaginale :

La patiente devra éviter toute toilette intime, tout traitement local (crème, gels, savons...) ainsi que tout rapport sexuel dans les 24 heures précédant l'examen. Il est conseillé d'éviter le prélèvement pendant la période menstruelle car la flore est modifiée (**Anonyme, 2017**).

La patiente s'installe sur la table en position gynécologique (**Anonyme, 2017**), le prélèvement vaginal s'effectue par écouvillonnage simple de la cavité vaginale, c'est-à-dire que celui-ci doit balayer l'exocol. Fermer hermétiquement l'écouvillon, l'identifier et le porter directement au laboratoire en faisant attention à la déshydratation (**Bouillevaux, 2009**).

a) Prélèvement d'hémoculture:

Cette technique microbiologique consiste à ensemer un milieu de culture avec une quantité de sang prélevé sur un sujet afin de déterminer les microorganismes qui l'affectent devant une fièvre inexplicable (**Contrefois, 1995**).

Le moment du prélèvement est capital. Pour une bactériémie discontinue, la recommandation internationale est en faveur du moment des frissons ou un clocher thermique pouvant correspondre à une décharge bactérienne. Au cours des états fébriles prolongés et inexplicables. Le prélèvement doit être effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Il constitue une étape essentielle pour diminuer les contaminations qui gênent l'interprétation. La peau de la

zone de prélèvement (L'antisepsie de choix est la teinture d'iode qui est bactéricide) ainsi que les doigts du préleveur doivent recevoir deux applications d'antiseptique séparées de deux à trois minutes. Les prélèvements sont effectués à un intervalle d'environ une heure pour 2 à 3 hémocultures. (**Vandepitte et al., 2003**).

a) Prélèvement du pus :

Le prélèvement doit être réalisé avec du matériel stérile à usage unique, selon les règles d'hygiène et d'asepsie appropriées. La nature du prélèvement pour le diagnostic direct des suppurations bactériennes dépend du siège de l'infection dans notre cas échantillons provenant de zones superficielles (pus d'escarres, plaies ...) Le prélèvement est effectué par écouvillonnage à l'aide d'écouvillon stérile. L'acheminement au laboratoire doit être le plus rapide possible. En effet, si les prélèvements sont laissés pendant longtemps à la température ambiante, les bactéries se multiplient et peuvent fausser l'interprétation des résultats. Par ailleurs, certaines bactéries sont fragiles. Leur exposition à l'air et à la dessiccation peut les tuer (**Bassole, 2012**).

- Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignements [Nom et prénom du malade, Age et sexe, Service d'hospitalisation, Nature de prélèvements, Date et heure du prélèvement, Antibiothérapie éventuelle (nature et durée), Renseignements cliniques]. Ensuite le prélèvement subit un enrichissement avec du Bouillon Nutritif.

### **3.2. Isolement:**

Après incubation, l'isolement se fait à partir des cultures positives (présente un trouble) l'ensemencement se fait à l'aide de l'anse de platine ou pipette pasteur selon la méthode de stries sur gélose Mac Conkey (MC) ou Hecktoen. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies.

### **3.3. Purification:**

On procède à l'examen macroscopique de la culture à partir des colonies isolées sur MC ou Hecktoen en se basant sur les caractères culturels des bactéries (forme de colonie, taille, aspect et la couleur) et examen microscopique par coloration de Gram, repérer les colonies suspectes et les coder sur le revers de la boîte. Ensuite, procéder directement à la coloration de Gram et sélectionner les bacilles Gram négatifs.

La purification se fait en poursuivant le repiquage en faisant des stries éloignées sur le même type de milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pure présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement.

### **3.4. Conservation :**

Repiquer a partir des isolats purs, sur GN incliné en tube en faisant des stries serrées. Après incubation pendant 24-48 h a 37°C, les tubes sont conservés au réfrigérateur à 4°C.

### **3.5. Identification biochimique par galerie API 20E:**

#### **a) Principe et description de galerie :**

API 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (**Biomerieux SA**).

#### **Mode opératoire :**

##### **➤ Préparation de la galerie :**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage et placer la dans la boîte d'incubation (**Biomerieux SA**).



➤ **Préparation de l'inoculum:**

Préparer une suspension bactérienne dense dans 10 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture jeune de 18 à 24 h sur GN.

➤ **Inoculation de la galerie :**

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

- Pour les tests **CIT**, **VP** et **GEL**, remplir tube et cupule,
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

- Refermer la boîte d'incubation et incuber à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 18-24 heures (**Biomerieux SA**).

➤ **Lecture et interprétation :**

✓ **Lecture de la galerie:**

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture (Tableau 10 en Annexe).

- Si 3 tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

- **Test TDA** : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur **marron-rougeâtre** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.
- **Test IND** : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur **rose** diffusant dans toute la cupule indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.
- **Test VP** : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur **rose** ou **rouge** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration **rose** apparaissant après 10 minutes doit être considérée **négative**.

-**Test complémentaires** : Réduction des nitrates en nitrites (NO<sub>2</sub>) et en azote (N<sub>2</sub>) ajouter 1 goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2 dans le tube GLU. Attendre 5 minutes. Une coloration **rouge** indique une réaction **positive** (NO<sub>2</sub>).

Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles): ajouter 2 à 3 mg de réactif Zn dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté **jaune** indique une réaction **positive** (N<sub>2</sub>) à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule est **orange-rouge**, la réaction est **négative**, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zinc.

**Note:** Le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif. Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3 :

- Réincuber la galerie 24 heures ( $\pm$  2 heures) de plus sans rajouter les réactifs.
- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (**Biomerieux SA**).

✓ **Interprétation :**

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

• Détermination du profil numérique :

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21ème test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive (**Biomerieux SA**).

• Identification :

À l'aide du logiciel d'identification **apiweb TM**.

### **3.6. Étude de la sensibilité aux antibiotiques:**

Au cours de notre étude nous avons déterminé la sensibilité des souches d'entérobactéries vis-à-vis de 15 antibiotiques (Tableau 03) appartenant à différentes familles d'antibiotiques par la technique d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2018 (CA-SFM, 2018).

#### ➤ **Préparation de la gélose**

L'épaisseur de la gélose doit être de 4 mm ± 0,5 mm (approximativement 25 ml pour une boîte de 90 mm de diamètre (CA-SFM, 2018).

#### ➤ **Préparation de l'inoculum**

- Préparer une suspension bactérienne (à partir d'une culture jeune de 18 heures), prélever au moins 03 colonies et émulsionner dans 05 ml d'eau physiologique stérile (L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation).

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne. Son opacité doit être équivalente à une DO de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm soit 0,5 la valeur de Mac Farland. Cela correspond à une culture pure à peine confluyente de  $10^6$  à  $10^8$  UFC/ml (CA-SFM, 2018).

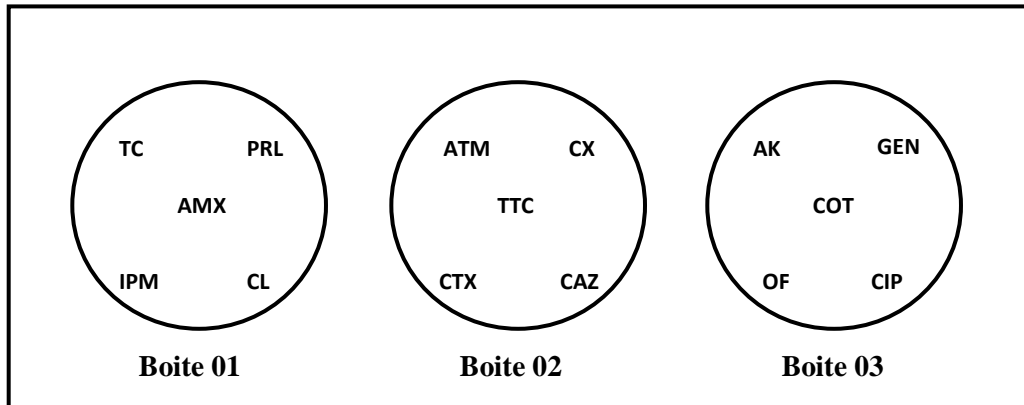
#### ➤ **Ensemencement de la gélose**

- Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.
- Écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions
- Déposer les disques.

Si les boîtes sont abandonnées à la température du laboratoire trop longtemps avant le dépôt des disques, les bactéries peuvent commencer à croître conduisant à une fausse diminution de la taille des zones d'inhibition (CA-SFM, 2018).

#### ➤ **Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique**

Déposer les disques fermement (Figure 04), à l'aide d'une pince préalablement flambée, à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide (CA-SFM, 2018).



**Figure 04: l`application des disques d`antibiotiques sur les boites**

➤ **Incubation des boîtes de Pétri**

Les incuber idéalement dans les 15 min. qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min. Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d`inhibition faussement agrandies. Incuber les boites à 37°C pendant 16 à 24 h (couvercle en haut) (CA-SFM, 2018).

➤ **Mesure des zones d`inhibition et catégorisation clinique**

La bordure de la zone d`inhibition doit être lue à l`œil nu et au niveau de la complète inhibition de la culture ; la boîte étant placée à 30 cm de l`œil. Mesurer les diamètres des zones d`inhibition au millimètre le plus proche avec une règle ou un pied à coulisse.

Interpréter les diamètres des zones d`inhibition par référence aux tableaux où figurent les diamètres critiques : la comparaison des diamètres mesurés autour des disques déposés et ceux recommandés permettra de détecter le phénotype sensible, intermédiaire, et résistant

- Si le diamètre de la zone d`inhibition est  $\geq D$  : la souche est dite sensible (S).
- Si le diamètre de la zone d`inhibition est  $< d$  : la souche est dite résistante (R).
- Si  $d \leq$  diamètre de la zone d`inhibition  $< D$  : la souche est dite intermédiaire (I) (CA-SFM, 2018).

Tableau 03: Liste des antibiotiques utilisés

Famille	Antibiotique	Sigle	Charge Du disque	Diamètres critiques	
				R (d)	I S (D)
<b>β-Lactamines</b>	Aminopénicillines	Amoxicilline	AMX	25 µg	< 19    ≥19
	Carboxypénicillines	Ticarcilline	TC	75 µg	<20    ≥23
	Uréidopénicillines	Pipéracilline	PRL	100 µg	<17    ≥20
	Carbapénèmes	Imipénème	IPM	10 µg	<16    ≥22
	Clavams	Ticarcilline+Acide clavulanique	TTC	75-10 µg	<20    ≥23
	Monobactames	Aztréonam	ATM	30 µg	<21    ≥26
	C1G	Céfalexine	CL	30 µg	<14    ≥14
	C2G	Céfoxitine	CX	30 µg	<15    ≥19
	C3G	Céfotaxime	CTX	30 µg	<17    ≥20
Ceftazidime		CAZ	30 µg	<19    ≥22	
<b>Aminoglycosides</b>	Amikacine	AK	30 µg	<13    ≥16	
	Gentamicine	GN	10 µg	<14    ≥17	
<b>Fluoroquinolones</b>	Ofloxacine	OF	5 µg	<22    ≥24	
	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	<24    ≥26	
<b>Triméthoprime-sulfamides</b>	Co-Trimoxazole	COT	1,25-23,75 µg	<11    ≥14	

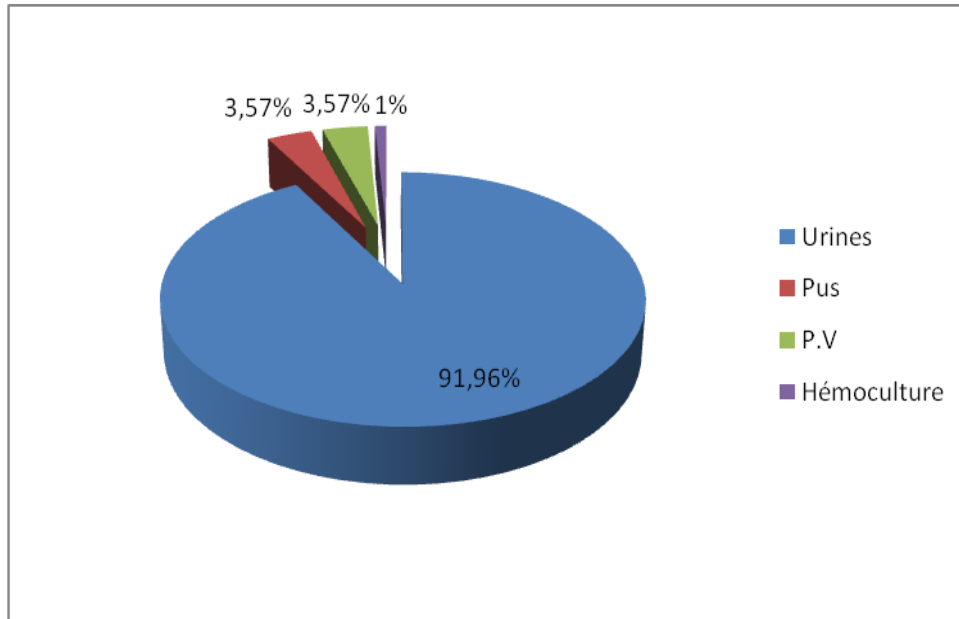
**Partie III :**  
**Résultats et**  
**discussion**

### 1. Isolats bactériens:

Durant la période d'étude allant de 4 Février au 30 Avril 2019, 112 prélèvements portant sur différents produits pathologiques (Urines, pus, prélèvement vaginal, hémoculture) ont été collectés à partir de différents services (précédemment décrites dans le chapitre Matériel et Méthode) (Tableau04) (figure05).

**Tableau 04: Répartition des échantillons selon les services et sites de prélèvements.**

Établissement hospitalier	Services	Types de prélèvement				
		Urines	Pus	Hémocultures	P.V	Total
/	Laboratoire privé Ziadi	4	0	0	0	4
Khalidi - Abdel aziz	Gynécologie	7	0	0	7	14
	GHR	16	0	0	0	16
EPH Alia Saleh	Orthopédie	4	0	0	0	4
	Réanimation	15	0	0	0	15
	Chirurgie femme	7	1	0	0	8
	Dialyse	3	0	0	0	3
Bouguerra Boulaares	Infectieux	40	0	0	0	40
	Oncologie	0	1	1	0	2
	Malades externes	7	2	0	0	9
	<b>Total</b>	103	4	1	4	112



P.V: prélèvement vaginale

**Figure 05: Répartition des prélèvements effectués**

Il a été rapporté que les infections urinaires (IU) sont une pathologie très connue tant en médecine de ville qu'en pratique hospitalier. En effet elles occupent le second site d'infection bactérienne après les infections respiratoires (Sekhsokh *et al.*, 2008). Dans notre travail, nos résultats ont montré une prédominance des prélèvements contenant des bactéries responsables des infections urinaires. Au cours de notre travail nous avons pu établir une collection de souches comprenant 60 isolats parmi l'ensemble des BGN isolées.

### **1.1. Observation macroscopique des isolats:**

Les observations des boîtes incubées montrent une diversité des colonies (Figure06 et 07).

✓ Sur gélose Mac Conkey :

- Colonies rose (lactose +), ronde, lisse, bombé, forme régulier.
- Colonie rouge, ronde, matte, aplatis, muqueuse, forme régulier.
- Colonie rose, ronde, bombé, crémeuse, forme régulier.

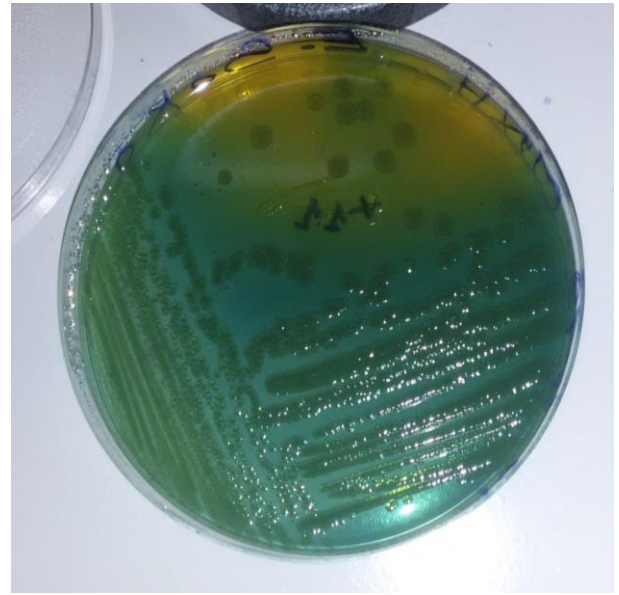
✓ Sur gélose Hecktoen:

- Colonie orangé saumon, ronde, lisse, bombé, forme régulier.
- Colonie orangé saumon, aplatis, forme régulier.
- Colonie verte transparente, ronde, brillante, aplatis, forme régulier.





**Figure 06 : Aspect des colonies sur Mac Conkey**



**Figure 07: Aspect des colonies sur Hecktoen**

**1.2. Aspect microscopique:**

Après coloration de Gram, l'observation microscopique (Figure 08) montre des bacilles à Gram négatif (BGN) droits, courts, moyens ou longs, épais ou fins, isolés ou regroupés en paires, ou en chainettes de longueur variable, ou bien des coccobacilles isolés ou regroupés en paires.



**Figure 08 : Aspect microscopique d`une souche isolées**

## 2. Identification des souches :

Tout isolat pur donnant des BGN a été retenu pour une éventuelle identification biochimique par la galerie API 20E ,44 entérobactéries ont été identifiées parmi un totale de 60 isolats avec une fréquence d`isolement 73.33% (44/60).

La détermination de la positivité et la négativité de chaque test consiste sur une lecture; spontanée (sans ajouter aucun réactif) ou après l`ajout des réactifs spécifiques. La lecture est faite en se basant sur le tableau de lecture de la galerie API20E.

L`analyse des espèces identifiées par rapport a l`ensemble des souches d`entérobactéries isolées (Figure09 et 10) (Tableau05), a montré une prédominance d`*Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* avec 9 souches (20.45%), suivi de *Klebsiella pneumoniae* avec 8 souches (18.18%), de *Raoultella ornithinolytica* avec 5 souches (11,36%), de *Serratia odorifera*, *Serratia marcescens* avec 2 souches (4.54%), *Kluyvera spp* avec 2 souches (4.54%).

Les autres espèces viennent en dernier position avec des Pourcentages moindres (2.27%): *Klebsiella oxytoca*, *Raoultella terrigena*, *Serratia ficaria*, *Citrobacter koseri*, *Salmonella spp*, *Salmonella arizonae*, *Pantoea spp*.

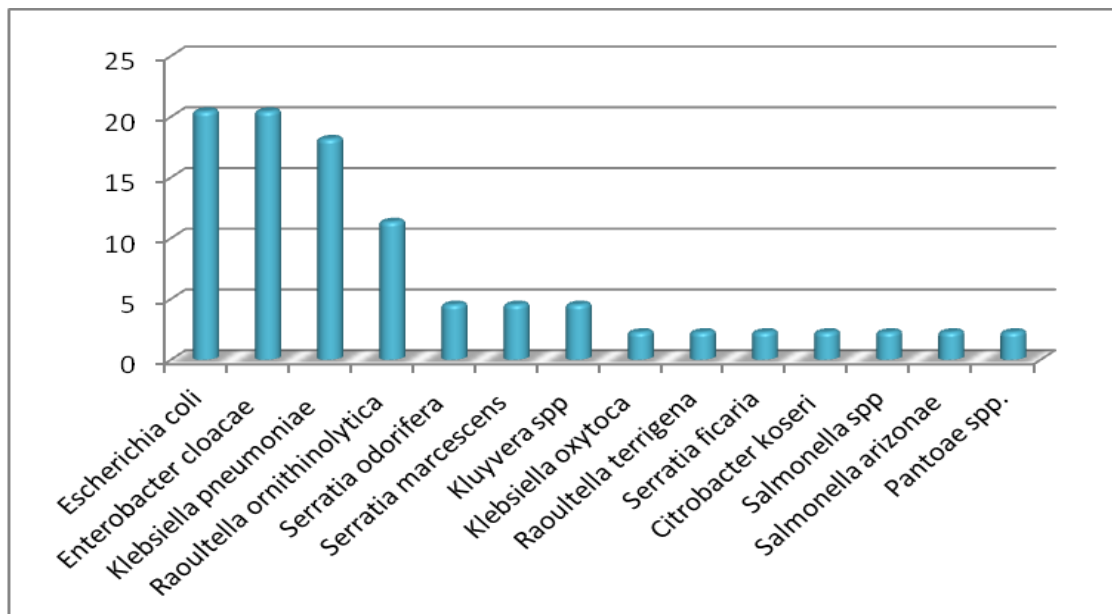


Figure 09 : Répartition des espèces d`Entérobactéries isolées

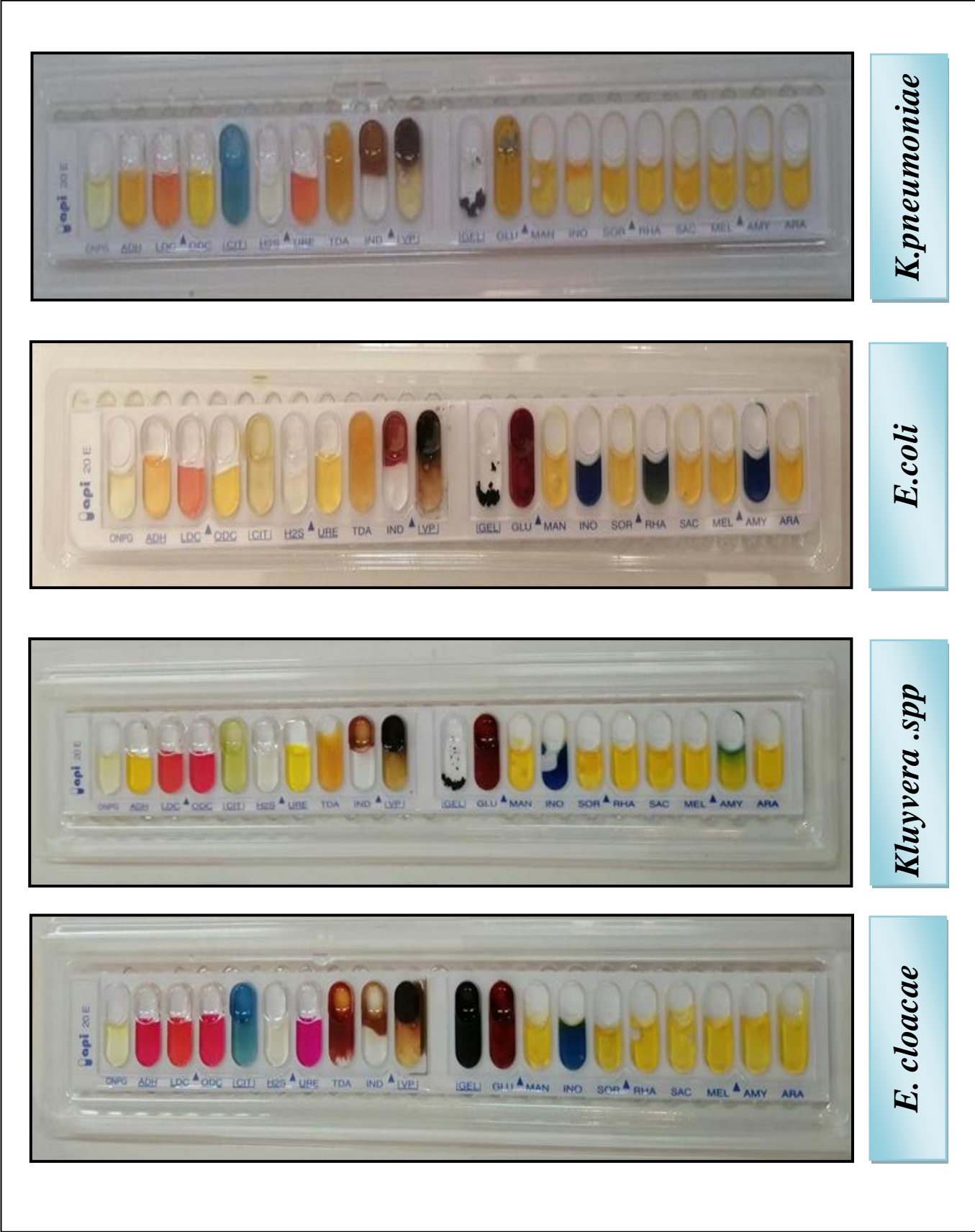


Figure 10: Quelques résultats de l'identification par la galerie miniaturisée API 20E

Tableau 05 : Les résultats de l'identification des souches par la galerie API 20E

Test Code d'isolats	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	Espèces	
<b>Kpl</b>	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<b>*</b>	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	
<b>**</b>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>	
<b>***</b>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>	
<b>****</b>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	<i>E. coli 1</i>	
<b>7.1</b>	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<b>7.2</b>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	<i>E. coli 1</i>	
<b>1.2</b>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<b>73</b>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	<i>E. coli 1</i>	
<b>2.1</b>	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	<i>E. coli 1</i>	
<b>6.1</b>	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	<i>Salmonella spp</i>	
<b>4.1</b>	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	
<b>1.1</b>	+	+	+/-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
<b>Pu E5</b>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	<i>E. coli 1</i>	
<b>2.1</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
<b>5.1</b>	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Pantoae spp</i>
<b>4.1</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>	

Tableau 05 : Les résultats de l'identification des souches par la galerie API 20E (suite)

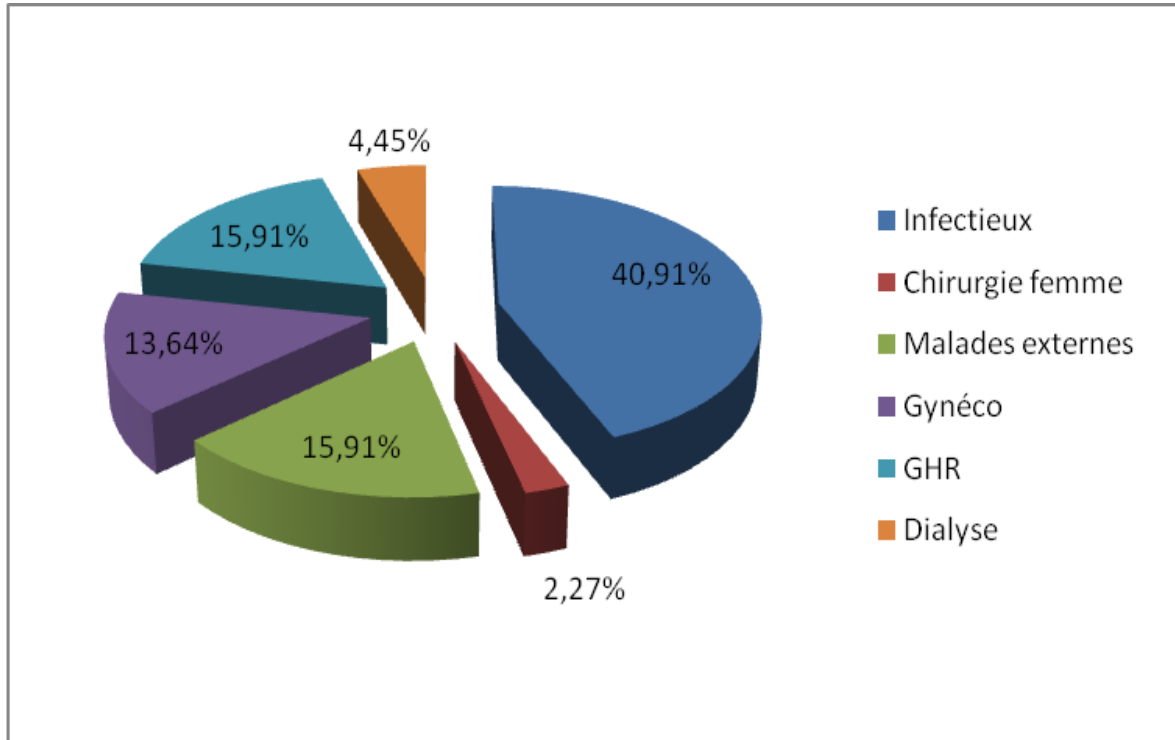
Test Code d'isolats	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	Espèces
1.1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Enterobacter cloacae</i>
3.2	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Enterobacter cloacae</i>
2.1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		<i>Salmonella arizonae</i>
Pu 1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Enterobacter cloacae</i>
Pu2	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
7.1	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
5.1	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
9.1	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Enterobacter cloacae</i>
1.1	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Serratia odorifera 1</i>
3.1	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Serratia ficaria</i>
4.1	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
E1	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Raoultella ornithinolytica</i>
E2	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Kluyvera spp</i>
E6	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
E9	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
E3	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
E1	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Tableau 05 : Les résultats de l'identification des souches par la galerie API 20E (suite)

Test Code d'isolats	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO2	N2	Espèces
<b>E3 P.V</b>	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Citrobacter koseri</i>
<b>E4 P.V</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Serratia marcescens</i>
<b>179</b>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
<b>E8</b>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Kluyvera spp</i>
<b>E3</b>	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella terrigena</i>
<b>E6</b>	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Raoultella ornithinolytica</i>
<b>E5</b>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<b>E1</b>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<b>E10 P.V</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Enterobacter cloacae</i>
<b>E9 p.v</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Serratia odorifera 1</i>

**2.1. Répartition des souches en fonction des services :**

Les résultats de la répartition des souches en fonction des services (Figure 11) ont montré que la majorité des souches ont été isolées dans le service infectieux, chez les patients externe et GHR (grossesse haut risque) avec des pourcentages soit respectivement: 40.91% , 15.91%, 15.91% suivi de service de Gynécologie avec un pourcentage de 13.64%. Cependant les autres services ont présenté des fréquences d'isolement faibles: Dialyse (4.45%), Chirurgie femme (2.27%).



**Figure 11: Répartition des souches en fonction des services**

2.2. Répartition des souches selon le type de prélèvement et selon l'espèce:

Tableau 06: Répartition des souches selon type de prélèvements et selon les espèces

prélèvements	Effectif (%)	Genres	Espèces	Effectif d`espèces (%)
<b>Urines</b>	<b>35 (79.55)</b>	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	7(20)
		<i>Klebsiella</i>	<i>k. pneumoniae</i>	7(20)
			<i>k. oxytoca</i>	1 (2.86)
		<i>Raoultella</i>	<i>R. ornithinolytica</i>	5(14.29)
			<i>R. terrigena</i>	1(2.86)
		<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i>	1(2.86)
			<i>S. ficaria</i>	1(2.86)
			<i>S. odorifera</i>	1(2.86)
		<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella.spp</i>	1(2.86)
			<i>S. arizonae</i>	1(2.86)
		<i>Kluyvera</i>	<i>Kluyvera spp</i>	1(2.86)
		<i>Pantoae</i>	<i>Pantoae spp</i>	1(2.86)
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i>	6(17.14)		
<b>Pus</b>	<b>4 (9.09)</b>	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	2(50)
		<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i>	2(50)
<b>P.V</b>	<b>4 (9.09)</b>	<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i>	1(25)
		<i>Serratia</i>	<i>S. odorifera</i>	1(25)
			<i>S. marcescens</i>	1(25)
<i>Citrobacter</i>	<i>C. koseri</i>	1(25)		
<b>Hémoculture</b>	<b>1 (2.27)</b>	<i>Klebsiella</i>	<i>k. pneumoniae</i>	1( 100)



La majorité des souches cliniques étudiées dans notre travail ont été isolées des urines (79.55%), en deuxième position les souches isolées du pus (9.09%), prélèvement vaginale (9.09%) et hémoculture avec un taux (2.27%). Le Tableau 06 exprime la répartition des souches analysées selon le type de prélèvement et selon les espèces.

La distribution des espèces isolées en fonction des sites de prélèvement révèle que *E. coli* et *K. pneumoniae* occupe la première place avec un taux de 20 %, suivi d'*Enterobacter cloacae* de 17.14 % dans les urines. Il a été rapporté que les entérobactéries sont les germes le plus souvent isolées dans les IU. Parmi les germes les plus incriminées arrive en première position *Escherichia coli* avec des fréquences d'isolement allant de 65 à 85% (**Ben Abdallah et al., 2005**).

### a) Urines

#### ➤ *Raoultella ornithinolytica* :

Les résultats d'isolement révèle la présence de *R. ornithinolytica* avec un pourcentage significatif estimée à 14.29%. Toutefois la description de ce pathogène dans le cadre d'infection urinaire est peu habituelle. Une série de quatre cas d'infections urinaires ont été rapportées au Brésil chez des patients souffrant de cancer ce qui renforçant son caractère opportuniste (**Leroy, 2015**).

#### ➤ *Raoultella terrigena* :

Nous avons pu isoler une seule souche de *R. terrigena*. Le taux d'isolement reste très bas, renforçant l'idée d'un

faible pouvoir pathogène de cette espèce. En effet cette bactérie initialement décrite en 1981 anciennement nommé *K. terrigena* une étude a pu retrouver 10 isolats de *R. terrigena* isolé d'urine, de plaies et de prélèvement broncho-pulmonaire (**Leroy, 2015**).

#### ➤ *Kluyvera spp*:

*Kluyvera spp* est un bacille Gram négative flagellé et mobile, qui appartient a la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est rarement décrite en association avec des infections cliniquement significatives. Au début des années 1980, ce germe était principalement considéré comme un saprophyte bénin colonisant principalement les voies respiratoires, gastro-intestinales ou les voies urinaires (**Juan et al., 2001**).

*Kluyvera* fait partie de la flore normale de tube digestif humain, mais il est généralement associé à un faible nombre des bactéries. Cela pourrait expliquer pourquoi son isolement dans les infections clinique est rare. Il est inconnu si les infections ont *Kluyvera* soient principalement endogènes ou environnementale (**Juan et al., 2001**).

➤ ***Salmonella spp:***

Les infections urinaires à salmonelles sont exceptionnelles. Recensent 54 cas d'infections urinaires symptomatiques à salmonelle. Il existait des facteurs prédisposant comme un cancer, une lithiase, une greffe rénale ou une atteinte urinaire congénitale (**Christman et al., 1992**).

Les infections a *Salmonella arizonae* est liée à une immunodépression dans la majorité des cas (**Harifi et al., 2010**). Les localisations extradigestives de *S.arizona* demeurent rares. Ainsi, sont rapportées dans la littérature, de façon isolée, des infections urinaires (**Harifi et al., 2010**).

➤ ***Pantoeae spp :***

Dans notre étude on a isolé une souche de *Pantoeae spp* à partir des urines constat identique rapporté par (**Ebongue et al., 2015**) qui a trouvé une très faible proportion de *Pantoeae spp* dans les urines.

Pour les autres prélèvements (pus, prélèvement vaginale, hémoculture), ces derniers révèlent une variété des espèces d'Entérobactéries :

**b) Prélèvement vaginale :**

La vaginite est un motif de consultation très fréquent en gynécologie (**Bohbot et al., 2012**). Il est admis de définir individuellement les vaginites bactériennes, infections liées à un pathogène étranger (**Bergogne-Bérézin, 2007**). De nombreuses bactéries (entérobactéries, staphylocoques...) sont susceptibles de déclencher une vaginite (**Bohbot, 2012**).

Les principales espèces bactériennes d'intérêt médical retrouvées dans le milieu vaginal: La flore bactérienne issue de la flore digestive colonise souvent les voies génitales. Elle est observée chez 2 à 80% des femmes selon les bactéries impliquées. Elle est constituée de: Entérobactéries (*Escherichia coli* mais aussi *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* chez les patientes ayant reçu de

multiples antibiothérapies ou ayant parfois été colonisées par des produits contaminés (**Quentin, 2006**).

**c) Pus:**

➤ ***Enterobacter cloacae*:**

*E. cloacae* est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales. Est une bactérie pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses (**Iabadene et al., 2010**).

➤ ***Escherichia coli*:**

Les infections post opératoires sont fréquentes. Le diagnostic étiologique de ces infections post opératoires (**Kientega, 2012**). Nos résultats des prélèvements de pus qui provient des plaies chirurgicales permet d'identifier *E. coli*. Ce qui est rapporté par (**Kientega, 2012**).

Les bactéries en cause des suppurations des plaies chirurgicales sont surtout des bacilles à Gram négatif avec une forte proportion d'entérobactéries dont *E. coli* est le chef de file.

**d) Hémoculture:**

*K. pneumoniae* se distingue comme un agent pathogène opportuniste important causant des infections nosocomiales surtout au sein des populations ayant un système immunitaire affaibli. Elle constitue une cause fréquente d'infections urinaires, de pneumonies et de bactériémies (**Decre, 2011**).

### 3. Étude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques :

Sur l'ensemble des souches étudiées, les résultats de l'antibiogramme sont illustrés dans la Figure 12 et Tableau 07.

Tableau 07: Antibiogramme des souches isolées

Les espèces	AMX	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Serratia odorifera</i>	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	R	R	S	I	R	S	R	R	S	R	R	R	R
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	R	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	I	S
<i>Serratia ficaria</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	I	I	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	R	S	S	I	S	S	I	S	S	S	R	R	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R
<i>Salmonella arizonae</i>	R	R	R	S	S	R	S	S	I	S	S	R	R	S	R
<i>Kluyvera spp</i>	R	R	R	R	S	R	S	S	I	I	S	S	S	I	R
<i>Pantoea spp 4</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	R	R	I	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R
<i>Kluyvera spp</i>	R	R	R	R	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S

Tableau 07: Antibiogramme des souches isolées (suite)

Les espèces	AMX	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
<i>Serratia marcescens</i>	R	R	R	S	S	R	S	I	I	S	S	S	R	R	R
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	I	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	I	S
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
<i>Salmonella spp</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	R	R	S	S	I	S	S	R	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	S	R	S	S	I	S	S	R	S	S	R
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	I	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S
<i>Citrobacter koseri</i>	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	I	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	S	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	S	R	I	R	R	S	S	S	S	R	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Serratia odorifera</i>	R	R	R	R	S	R	S	I	I	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	S	S	R	S	S	S	R	I	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R	S	R	S	S	R
<i>Escherichia coli 1</i>	R	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

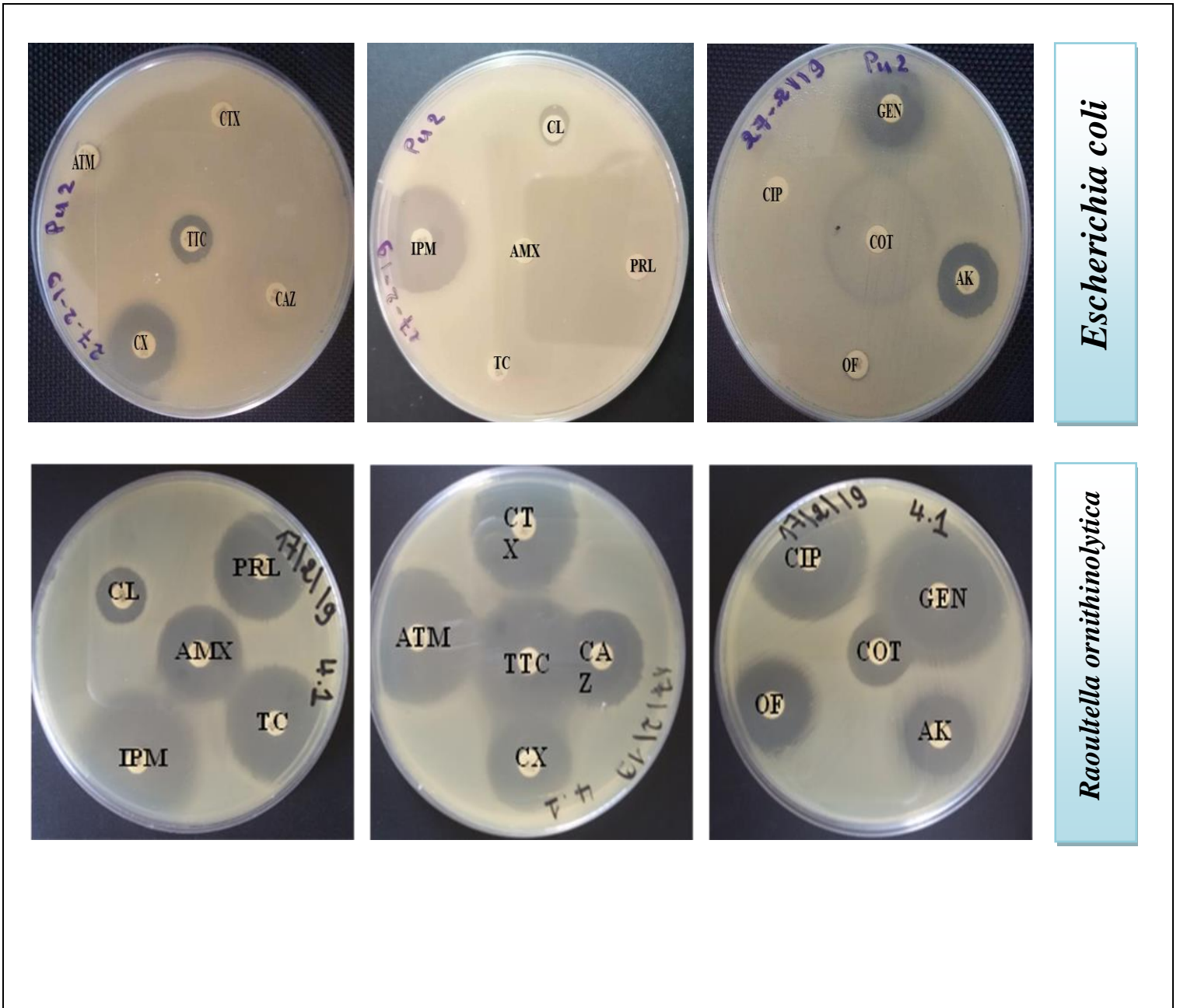
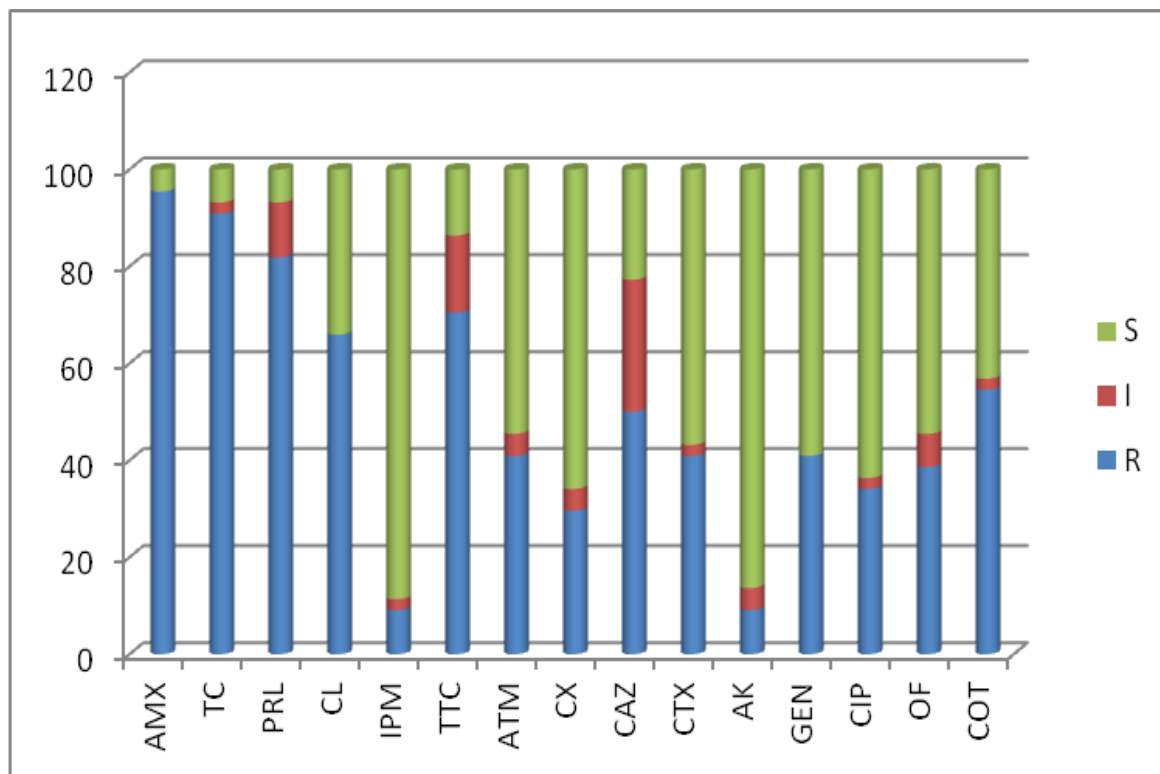


Figure 12: Quelques résultats d`antibiogramme des souches isolées

Toutes les souches ont été testées vis-à-vis de 15 molécules d'antibiotiques appartenant à 4 familles différentes dont 10  $\beta$ -lactamines, 2 Aminoglycosides, 2 Fluoroquinolone et le Trimethoprime-sulfamide. Les résultats du test de la sensibilité des entérobactéries isolées aux 15 ATB choisis sont résumés dans le tableau 08 et la figure 12.

**Tableau 08 : Pourcentage de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries**

Antibiotiques	R		I		S	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<b>AMX</b>	42	95.45	0	0	2	4.55
<b>TC</b>	40	90.91	1	2.27	3	6.82
<b>PRL</b>	36	81.82	5	11.36	3	6.82
<b>CL</b>	29	65.91	0	0	15	34.09
<b>IPM</b>	4	9.09	1	2.27	39	88.64
<b>TTC</b>	31	70.45	7	15.91	6	13.64
<b>ATM</b>	18	40.90	2	4.55	24	54.55
<b>CX</b>	13	29.55	2	4.55	29	65.91
<b>CAZ</b>	22	50	12	27.27	10	22.73
<b>CTX</b>	18	40.91	1	2.27	25	56.82
<b>AK</b>	4	9.09	2	4.55	38	86.36
<b>GEN</b>	18	40.91	0	0	26	59.09
<b>CIP</b>	15	34.09	1	2.27	28	63.64
<b>OF</b>	17	38.64	3	6.82	24	54.55
<b>COT</b>	24	54.55	1	2.27	19	43.18



**Figure 13 :. Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées**

Au vu de résultats obtenus, nous avons constaté que les ATB ont montré une grande hétérogénéité des souches (figure13). On fait ressortir l'émergence des souches d'entérobactéries isolées résistantes à la majorité des antibiotiques testés. Les taux de résistance les plus élevés ont été marqués à l'égard des différentes  $\beta$ -lactamines (AMX, TC, PRL, CL et TTC). En revanche, le taux de résistance le plus faible a été observé pour l'imipénème (9.09%). Pour les aminosides, l'Amikacine s'est montré le plus efficaces avec un taux de sensibilité de 88.64%, par contre une résistance diminué vis-à-vis la gentamicine (40. 91%).Concernant les fluoroquinolone, une activité a été maintenue sur 34.09% pour Ciprofloxacine et 38.64% pour Ofloxacine. Un taux de résistance plus au moins élevé avec 54.55% pour le Co-Trimoxazole.



### 3.1. La résistance d' *Escherichia coli* uropathogène :

Nous avons testé 7 souches d' *E. coli* et l'analyse de l'antibiogramme (Figure 14), a montré une résistance totale pour l'Amoxicilline (100%) ce résultat est proche de celui rapporté par (Yabifoua, 2006) qui signalé un taux de (81.61%). Concernant les céphalosporines, nous avons noté une faible résistance pour CX (14.29%). Pour le CTX présente un taux de résistance plus au moins élevée (42.86%). Concernant les quinolones nous avons constaté une résistance assez significative avec une moyenne (42.86%). Par rapport aux aminoglycosides, nous avons noté les taux de résistance suivant : AK (14.29%) et GEN (42.86%), ces taux sont supérieurs à ceux mentionnés par (Yabifoua, 2006). La résistance à la Co-Trimoxazole était légèrement élevé (57.14%)

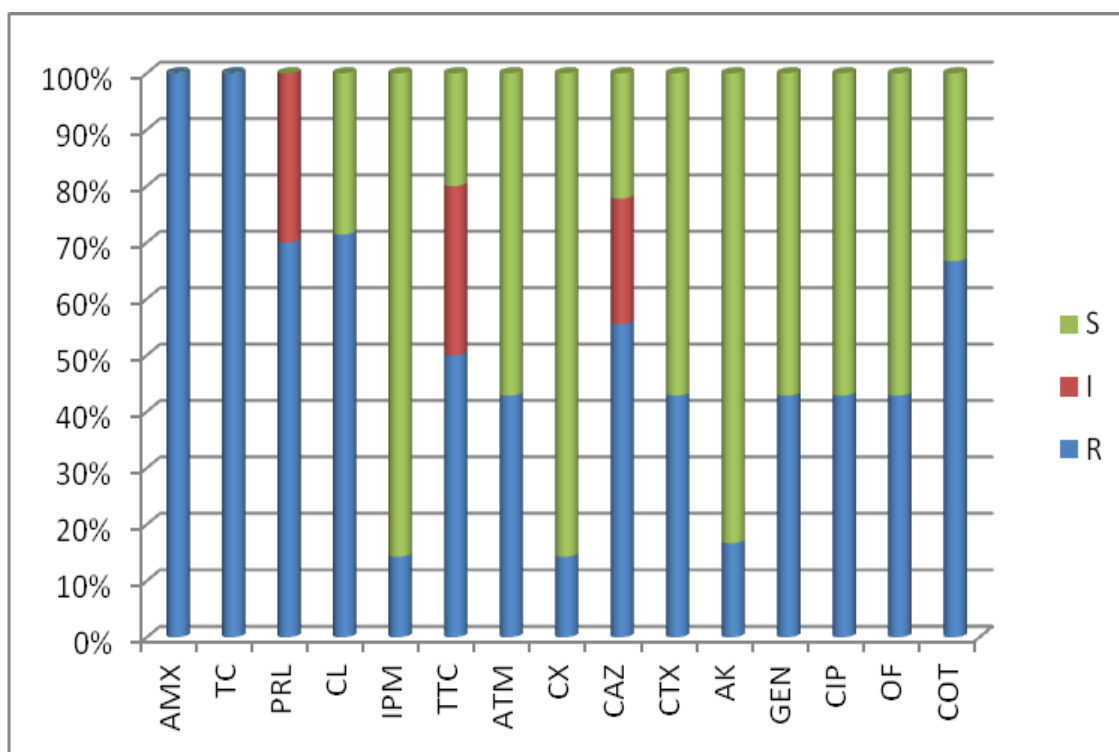


Figure 14: Sensibilité aux antibiotiques des souches d' *Escherichia coli*

### 3.2. La résistance de *Klebsiella pneumoniae* uropathogène :

D'après nos résultats, 7 patients se sont révélés positifs à une infection urinaire causée par l'espèce *Klebsiella pneumoniae*. Concernant l'antibiogramme (Figure 15), toutes les souches présentent une résistance total (100%) pour deux antibiotiques : AMX, TC, cependant, nous avons noté que pour les céphalosporines de deuxième génération, 14.29% des souches sont résistantes à la CX, pour les Aminoglycosides les taux de résistances sont : AK (28.57%) et GEN (57.14%). Contrairement à nos résultats les pourcentages de résistances à l'amikacine obtenue par (Guessoum et Yekhlef, 2017) est de 84%.

En fin les souches de *Klebsiella pneumoniae* étudiées présentent un taux de résistance égale à 28.57% pour la ciprofloxacine. Pour IPM, les souches de *Klebsiella pneumoniae* conservent une excellente sensibilité avec un taux 85.71%, cette observation est en conformité avec celle rapportés par (Guessoum et Yekhlef, 2017).

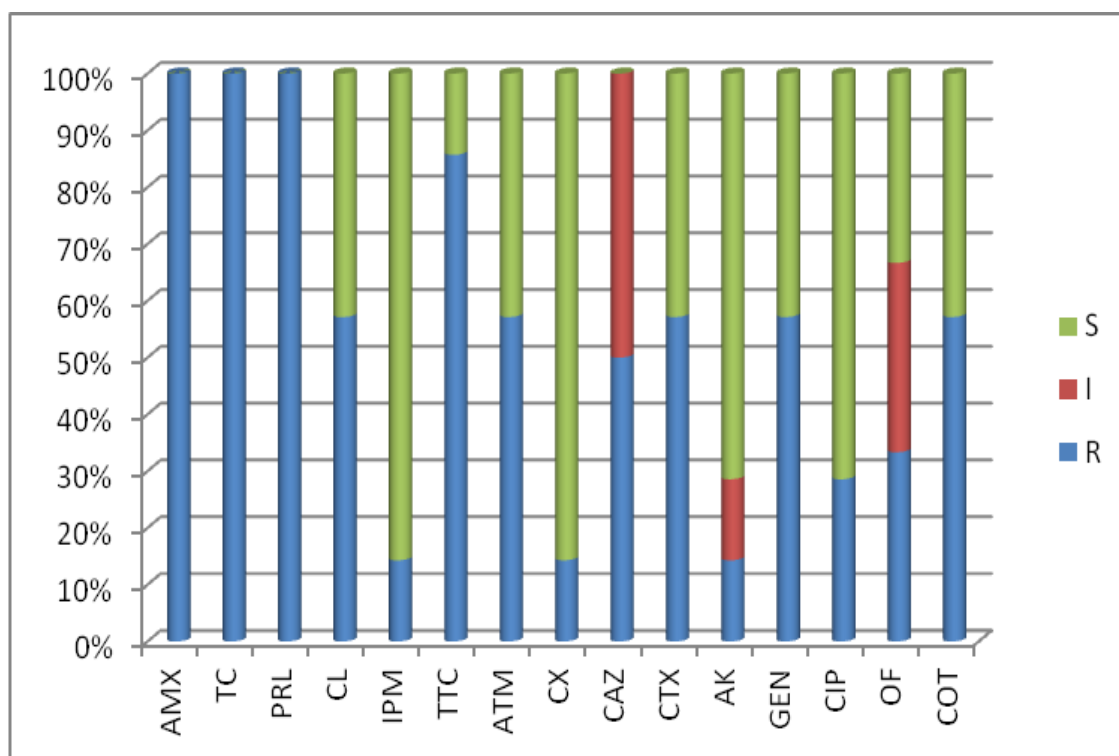


Figure 15: Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae*

L'étude de la sensibilité des entérobactéries aux ATB testés permet de dégager plusieurs points :

La sensibilité des entérobactéries aux  $\beta$  lactamines montre des taux de résistances acquise élevé surtout à l'hôpital du fait de caractères nosocomiales des souches. Cette situation générale est la conséquence de pression de sélection due aux larges usages des  $\beta$ -lactamines. De plus ces résistances acquises du fait de leur déterminisme plasmidique ont un grand pouvoir de dissémination (**Sekhsokh et al., 2008**). L'évolution de la résistance des entérobactéries aux troisièmes générations est liée à l'émergence et la diffusion de certains mécanismes de résistance dont le plus important la production enzymatique de BLSE. D'autres mécanisme ont été aussi décrits ; comme les céphalosporinases hyperproduit et céphalosporinases plasmidiques.

La majorité des entérobactéries résistante aux antibiotiques de troisièmes génération étaient sensibles à l'IPM indique ça place en premier choix de traitement des infections sévères à bactéries multirésistantes (**Mkaouar, 2008**). Les fluoroquinolones ont une excellente activité en dehors des souches multirésistantes évoqués. La résistance acquise aux quinolones est classiquement due à des mutations chromosomiques par modification ponctuelle de la cible, les seuls mécanismes de la résistance aux quinolones connu ont longtemps étaient de support chromosomique c'est à dire stable et non transférable (**Lahlou, 2009**). Les Aminoglycosides gardent une excellente activité ce qui rapporté dans plusieurs études (**Sekhsokh et al., 2008**).

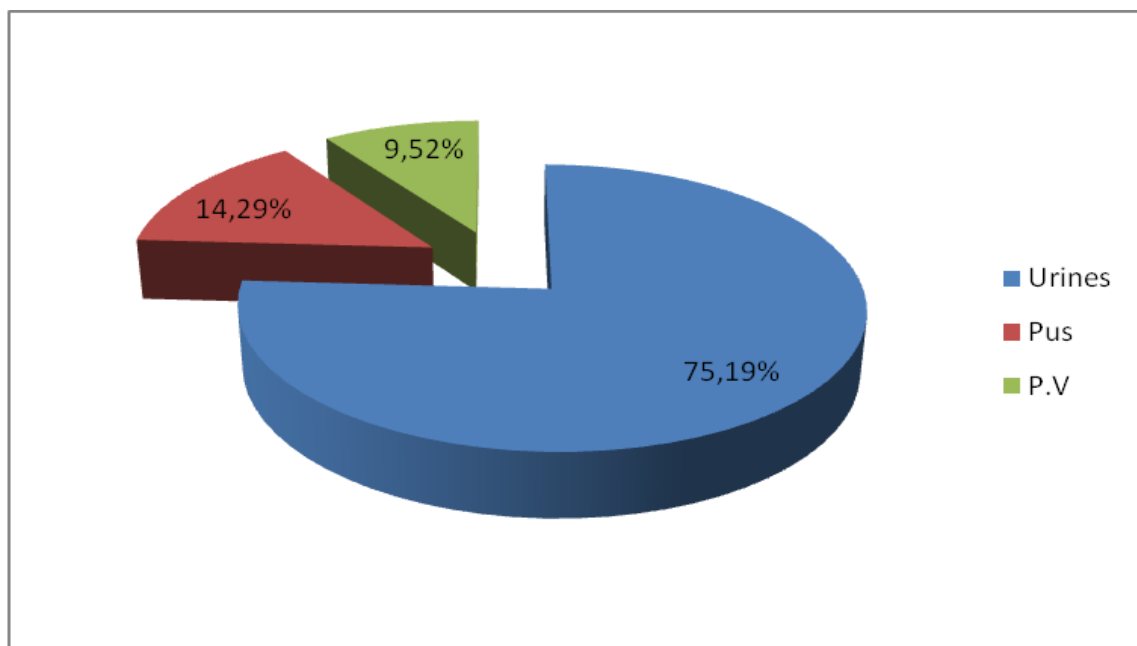
#### 4. Les Entérobactéries multirésistantes

Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque du fait de l'accumulation de résistances naturelles et acquise, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutiques (Arsalane *et al.*, 2010).

**Boutoille (2012)** a défini une bactérie multirésistantes BMR, toutes bactéries non sensible a au moins un agent antimicrobien parmi au moins 3 catégories a testé pour le germe. Deux facteur favorisant l'émergence et la dissémination de multirésistances :

- ✓ La pression de sélection exercé par les antibiotiques et une fois la résistance acquise, la diffusion de ces bactéries par transmission croisé (Arsalane *et al.*, 2010).

A partir de ces postulats, le taux de détection des Entérobactéries multirésistantes dans notre étude est de 47.37% (21 prélèvements analysés donnant BMR sur 44 prélèvements) (Figure 16 et Tableau 09). Parmi les Entérobactéries multirésistantes isolées on observe que : 16 ont été isolés des urines (75.19%), 3 ont été isolés du pus (14.29%), 2 ont été isolés d'un prélèvement vaginale (9.52%).



**Figure 16: Répartition des Entérobactéries multirésistantes selon type de prélèvements**

Tableau 09: Répartition des Entérobactéries multirésistantes selon type prélèvement

Prélèvements Espèces	Urines	Pus	Hémoculture	P.V	Total
<i>Escherichia coli</i>	3	1	0	0	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	0	0	0	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	2	0	1	5
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	0	0	0	2
<i>Salmonella arizonae</i>	1	0	0	0	1
<i>Pantoae spp 4</i>	1	0	0	0	1
<i>Serratia ficaria</i>	1	0	0	0	1
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	0	1	2
<i>Kluyvera spp</i>	1	0	0	0	1
Total	16	3	0	2	21

Les résultats obtenus dans notre étude révèlent: 4 cas de *Klebsiella pneumoniae* multirésistantes, 2 cas d`*Enterobacter cloacae* isolés des urines qui concordent a de celui rapportés par **Pierrot (2015)** qui étaient 5 cas, 3 cas soit respectivement.

Les BMR ont une place importante dans les infections nosocomiales, comme le montrent nos résultats. Au cours des dernières décennies, la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR) a eu un impact important sur les établissements de santé. La multirésistance est une étape vers l'impasse thérapeutique (**Arnaud et al., 2012**).

Parmi toutes les BMR, les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (EBLSE) sont les plus préoccupants compte tenu de leur pouvoir pathogène, de leur diffusion au sein des hôpitaux et de leur potentiel de diffusion dans la communauté.

Certaines BMR (*E. coli* et *K. pneumoniae* BLSE) peuvent coloniser longtemps le patient après sa sortie de l'hôpital, ce qui peut contribuer à leur dissémination au sein de la population générale (Valverde *et al.*, 2004).

En conclusion, ces résultats confirment la nécessité de poursuivre et intensifier une politique active de prévention des BMR basée à la fois sur la détection précoce et la mise en place des mesures d'hygiène (précautions complémentaires) et sur l'amélioration du bon usage des antibiotiques à l'hôpital et en ville.

### **5. Les Entérobactéries Pan- résistantes :**

Une bactéries Pan-résistante ou toto-résistante est résistante a toutes les antibiotiques testés (Legrand., 2017) ou une bactérie a résistance large (Muller, 2017). Ce dernier cas est heureusement rare, mais le phénomène est en augmentation. Il place alors les cliniciens une impasse thérapeutiques : dans ce type de situation, ils ne disposent d'aucune solution pour lutter contre l'infection (Legrand, 2017).

Il est à noter qu'au cours de notre étude on a pu isoler 3 souches toto-résistantes (Figure 17).

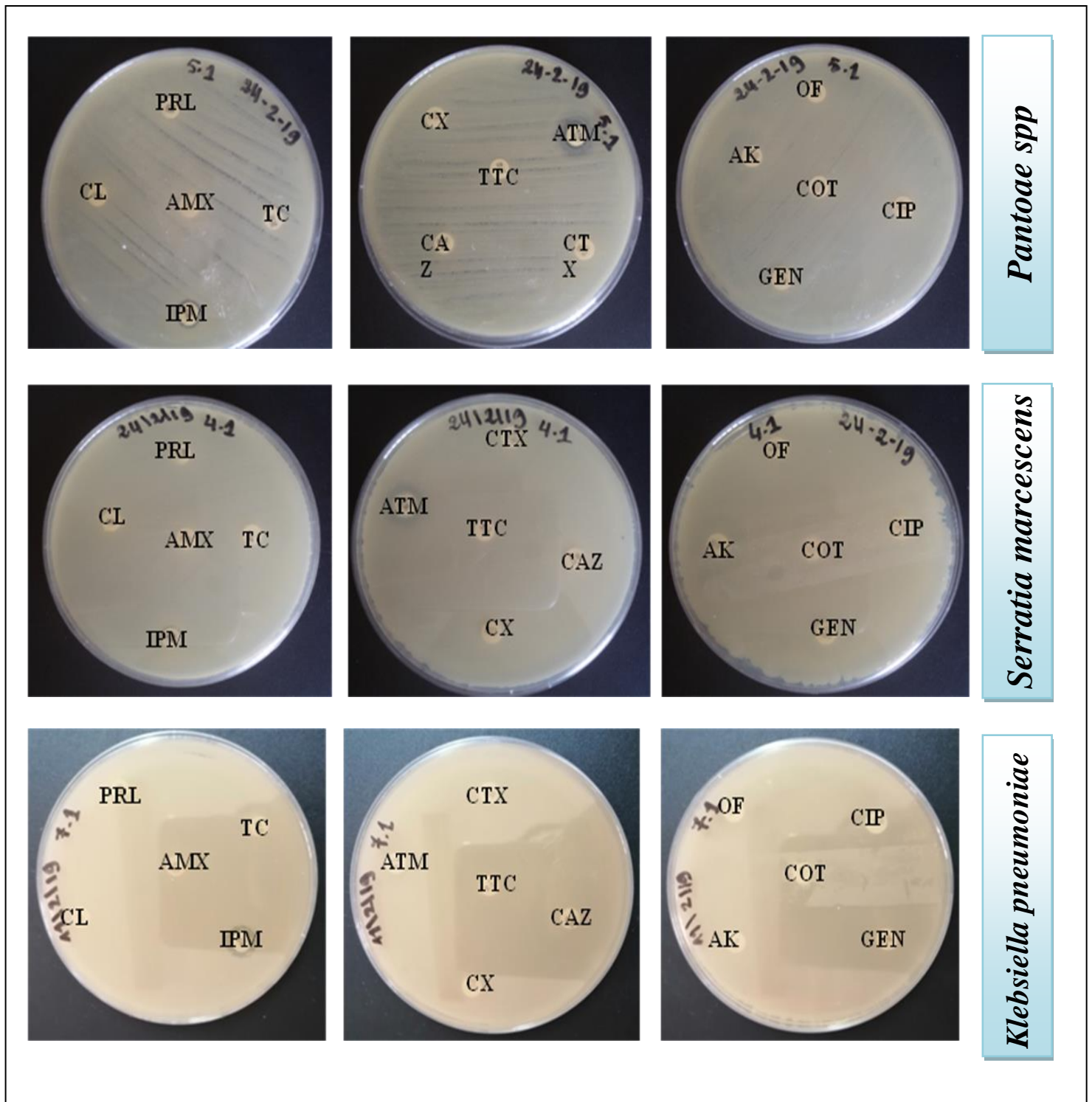


Figure 17 : Résultat d`antibiogramme des souches toto-résistantes.

# **Conclusion et perspectives**



## **Conclusion et perspectives**

Les entérobactéries sont des bactéries les plus retrouvées en pathologie humaine. Elles sont associées à de nombreuses infections. L'évolution des résistances des entérobactéries aux antibiotiques est un phénomène réel et épidémique. Il expose des difficultés de prise en charge thérapeutique infectieuse.

Ce travail, réalisé de façon rétrospective sur une période de trois mois avait pour objectif d'évaluer la résistance aux antibiotiques des entérobactéries et identifier les espèces incriminées.

Notre étude a porté sur l'isolement l'identification biochimique et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries à partir de différents produits pathologiques.

Les résultats de l'identification ont permis de caractériser 44 souches d'entérobactéries : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* sont les plus fréquemment isolés. L'étude de la sensibilité aux ATB a montré que les souches d'entérobactéries isolées expriment une résistance à tous les ATB testés, mais à des degrés variables.

Les taux de résistances les plus élevés ont été marqués à l'égard des différents  $\beta$  lactamines et Triméthoprime-sulfamides. Notons toutefois que l'Imipénème et l'Amikacine restent les antibiotiques les plus actifs sur la majorité des souches.

En Algérie, le problème se pose essentiellement pour les entérobactéries multirésistantes aux antibiotiques notamment celles productrices de BLSE qui posent, pratiquement, trois types de problèmes au monde médical:

- ✓ Un problème thérapeutique : pour le clinicien qui doit prescrire un antibiotique efficace, éviter les échecs thérapeutiques et la sélection de mutants résistants.
- ✓ Un problème microbiologique : une détection difficile, nécessitant la mise en œuvre de méthodes spécifiques.
- ✓ Un problème épidémiologique : pour les équipes de contrôle de l'infection qui doivent limiter la dissémination des souches multirésistantes.

Face à cette épidémie qui évolue à bas bruit et constitue une menace majeure pour la santé publique, une mobilisation déterminée et durable de l'ensemble des acteurs impliqués est indispensable:

Notre travail ouvre de nombreuses perspectives :

- ✓ Optimiser les méthodes et les milieux de prélèvements pour les différents types de BGN afin d'améliorer la sensibilité et la précision des données.
- ✓ Identifier les relations clonales entre les souches isolées d'un patient hébergeant une bactérie BGN multi résistante et celles isolées de son environnement par l'analyse des fragments de restriction.
- ✓ Des rapports prospectifs contrôlés sont nécessaires pour élucider correctement le rôle joué par la contamination des surfaces et de l'air (et de décontamination) dans la transmission des agents pathogènes nosocomiaux.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

### A

1. Abdelmalek A, Lezzar A. Les bactéries du groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. Mémoire de Master. Écologie Microbienne. Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine, 2016, 56p.
2. Allison M. Bon usage des antibiotiques : Résultats d'actions dans différents types d'établissement de santé. Science de la vie et de santé. Université Bourgogne Franche-Comte Ecole Doctorale Environnement et – Santé, 2017,193 p.
3. Anonyme. Manuel de prélèvement. Institut Pasteur de la Guyane Laboratoire de biologie médicale, 2017.
4. Arnaud I, Vincent J, Carbonne-Berger A *et al.* Bactéries multirésistantes (BMR) en milieu hospitalier : entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (EBLSE) et *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) Réseau BMR-Raisin, 2002-2010, 2012, p. 473-476.
5. Arsalane L, Qamouss Y, Chafik A, Boughalem M, Louzi. Épidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009. Les technologies de laboratoire, 2010, vol. 5, n°21, p.11-18.
6. Avril JL, Dabemat H, Denis F, Monteil H. Bactériologie clinique .3ème édition. Ellipses, Paris, 2000, 602p.

### B

7. Bassole I. Profil bactériologiques des suppurations postopératoires dans les services de chirurgie digestive et de chirurgie traumatologique de CHU-YO. Pharmacie. Université d'Ouagadougou, 2012, 100p.
8. Ben Abdallah H, Sahnoun O, Ben Romdhane F, Loussaief S, Noomen M, Bouzouaia N ;*et al.* Profile de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes Isolées dans la région de Monastir. *Rev Tun Infetiol*, 2005, vol. 2, p. 5-8.

9. Benabdallah-khoudja A, Hamlaoui Y. Étude phénotypique de quelques souches d'*Escherichia coli* productrices des carbapénémases. Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 2016, 41p.
10. Bergogne-Bérézin E. Flores vaginales normales vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique. Microbiologie, 2007, vol.9, p.139-144.
11. Bohbot J.M, Sednaoui P, Verriere F. Diversité étiologique des vaginites. Gynécologie Obstétrique & Fertilité, 2012, vol. 40, n° 10, p.578–581.
12. Bouakkaz B, Boucherbit S, L'examen cyto bactériologique des urines chez l'adulte. Ecologie Microbienne. Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine, 2017, 47p.
13. Boughachiche R, Sebais S. Caractérisation morphologique, biochimique et Mutagénèse des *Klebsiella pneumoniae* au CHU de Constantine. Mémoire de Master en Génétique Moléculaire. Constantine : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2016, 94p.
14. Bouillevaux E. Efficience du mode de prélèvement vaginal dans le cadre du dépistage systématique du Streptocoque du groupe B. Université Henri Poincaré, Nancy I,2009, 54p.
15. Bourré P, Ensaf A.Yersinioses. Prat Médecine Générale.2007, p. 141-145.
16. Bousseboua H. Elément de microbiologie. 2ème Edition. Constantine : Ed. Campus-Club, 2005, 304 p.
17. Boutoille D. Thérapeutique des infections a bactéries multi résistantes : le point sur la recherche clinique. Maladies infectieuses et tropicales CHU de Nantes. DESC Maladies infectieuse, 2012,80 p.
18. Bruyère F, Cariou G, Boiteux P *et al.* Généralités. Progrès en urologie, 2008, vol. 18, n° S1, p.4-8.

## C

19. Carl S. La Résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Le parrainage des antimicrobiennes. Le parrainage des antimicrobiens. 2009, vol. 42, p.6-2.
20. CA-SFM. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations 2018.

21. Cavallo J, Fabre R, Jehl F. Bêta-lactamines. EMC Maladies Infectieuses. 2004, p. 129-202.
22. Christmann D, Staub T, Hansmann Y. Manifestations extra-digestives des salmonelloses. Médecine et maladies infectieuses, 1992, vol.22, p. 289-298.
23. Contrepois A. Naissance de l'hémoculture. La Revue du praticien, 1995, vol. 45, n°8, p. 7-942.
24. Courvalin P. La résistance des bactéries aux antibiotiques: combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. 2007, n°1, p.7-12.

## **D**

25. Decere D, Verdet C, Emirian A ;et al. Emerging severe and fatal infections due to *Klebsiella pneumoniae* in two university hospitals in France.J.CLIN.Microbiol,2011,vol.49, p.3012-3014.
26. Dembelle M. Fréquence d'isolement des souches d'*Escherichia coli* au laboratoire de l'HGT. Thèse de doctorat en pharmacie. Bamako: Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, 2006,75 p.

## **E**

27. Ebongue O, Dongmo M, Jean P *et al.* Évolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. PanAfrican Médicale journal, 2015, p. 2-11.
28. El-Shaboury S, Saleh G, Mohamed F.A , Rageh A. H. Analysis of cephalosporin antibiotics. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2007, vol. 45, p. 1-19.
29. Emmanuel E. Évaluation des risques sanitaires et éco toxicologiques lies aux effluents hospitaliers. Thèse de doctorat : science et technique du déchet école doctoral de chimie. LYON: L'institut nationale des sciences appliquées, 2011, 246p.

## G

30. Grimont F, Grimont P. A.D. *Enterobacter* In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2<sup>eme</sup> edition, 2002, p. 661-671.
31. Grimont F, Grimont P. A.D. The Genus *Enterobacter* In : *Prokaryotes* .3<sup>ème</sup> édition, , 2006, p.197–214.
32. Guessoum R, Yekhllef I. Isolement et étude de *Klebsiella sp.* et *Proteus sp.* Bactéries uréolytiques impliquées dans les infections urinaires. *Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes*. Constantine : Université des frères Mentouri Constantine, 2017, 50p.

## H

33. Harifi G, Bouhlal Y, Ouilki I, Latifi M, El Hassani S. Ostéite à *Salmonella arizona* survenue chez une patiente sans déficit immunitaire. *La lettre du Rhumatologue*, 2010, n°362, p.28-30.

## I

34. Iabadene H, Messai Y, Ammari H et al. Prevalence of plasmid-mediated Ampc  $\beta$  lactamases among *Enterobacteriaceae* in Algiers hospitals. *International journal of Antimicrobial Agents*, 2009, vol 34, p.340-342.
35. Iabadene H, Messai Y, Alouache S ;et al. Mécanismes de résistance aux  $\beta$  lactamines et aux quinolones d'*Enterobacter* dans les hôpitaux d'Alger. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 2010, vol. 4, p. 24.

## J

36. Jean F, François R, Roland L, Philippe R. *Bactériologie clinique*. 3<sup>ème</sup> édition. ESKA / Lacassagne, 2018, 1744 p.
37. Joly B, Reynaud A. *Entérobactéries: systématique et méthode de diagnostic*. Tec & Doc Lavoisier, 2002, 392p.

38. Jordan L. Évaluation de la spectrométrie de masse MALDI –ToF et du séquençage multi-génique pour l'identification des *Raoultella* en bactériologie médicale. Médecine. Université de picardie jules vernes UFR de médecine, 2015,77 p.
39. Juan C, Sarria Ana M, Vidal Robert C, Kimbrough. Infection caused by *Kluyvera* Species in Humans. *Clinical Infectious Diseases*, 2001, vol.33, p.69-74.

## K

40. Kaper B, Nataro P, Mobley T. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. 2004, vol.2, p123-138.
41. Kientega S. Les infections du site opératoire : aspects épidémiologiques, cliniques, bactériologiques et thérapeutiques dans les services de chirurgie viscérale du CHUYO. Médecine. Bamako : Unité de formation et de recherche en science de la santé, 2012,79.

## L

42. Lagha N. Étude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, 2015, 105 p.
43. Lahlou A, Chegri M, L'Kassmi H. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Menés. *Antibiotiques*, 2009, vol.11, p. 90-96.
44. Lavigne J-P, Sotto A, Merle C. Résistance enzymatique d'*Escherichia coli* aux  $\beta$ -lactamines et prévalence en clinique. *Pathologie Biologie*. 2002, vol.50, n°6, p. 388-393.
45. Legrand O. Implication pharmacien hospitalier dans la prise en charge des infections a bactéries multirésistantes : Revue de pertinence des prescriptions de Piperacilline / Tazobactam et épargne des antibiotiques a large spectre ay centre hospitalier D'AUBAGNE. Université d'Aix-Marseille, 2017, 197p
46. Lehner A, Roger S, Fanning S, Iversen C. *Enterobacter* In: *Molecular detection of human bacterial pathogens*. 1er edition, 2011, p. 853-863.



47. Lemaoui E.C, Layaida H, Badi A, Foudi N. Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Anti-infectieux*, 2017, p.4-8.

48. Lymberopoulos M. Identification, caractérisation et distribution phylogénétique du fimbriae IR chez *Escherichia coli* Mémoire présenté pour l'obtention du grade de maître des sciences en microbiologie appliquée. INRS-Institut Armand Frappier, 2004, 124p.

## M

49. Marc V, Anne-Lise BG, Hervé B, Robin D, André P. Microbiologie et pathologie infectieuse. 2<sup>ème</sup> édition Américaine de Boeck université, 1999, 973p.

50. Mendaci A, Mihoubi S. Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*. Microbiologie Générale et biologies Moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 2015, 88p.

51. Mkaouar D, Mahjoubi F, Mezghani S, Znazen A, Ktari S, Hammami A. Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie. *Médecine et maladies infectieuses*, 2008, vol.38, p. 293-298.

52. Moulin M, Coquerel A. Pharmacologie. 2<sup>ème</sup> éd. Paris: ELSEVIER / MASSON, 2002, 191 p.

53. Muylaerta A, Mainil J. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». 2012, vol. 156, p.109- 123.

## O

54. Ouedraogo A.S, Jean Pierre H, Banuls A.L. Émergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteurs favorisants et évaluation de la menace. *Médecine et Santé Tropicales*, 2017, 27, 147-154 p.

## P

55. Philippon A. Entérobactéries des bêtalactamines. *Biologie clinique*. 2008, p. 1-18.
54. Pierrot S. Portage des bactéries multi résistantes en structures d'accueil pour personnes âgées : Évaluation d'une politique de dépistage cible en fonction des facteurs de risque. Université de LORRAINE, 2015, p 95.
55. Pilly E. Maladies infectieuses et tropicales. : Peste. Yersinioses. 20e édition. Paris : Vivachis, 2006, p. 361-364.
56. Ploy M, Lambert T, Gassama A, Denis F. Place des intégrons dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques. *Annales de Biologie Clinique*. 2000, vol. 58, p.439-44.
57. Ploy M, Gassama A, Chainier, Denis F. Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques Integrons: an antibiotic resistance gene capture system. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 2005, vol.20, p. 343-352.
58. Pohl P. Production de vérocytotoxine par les *Escherichia coli* du porc. *Annales de Médecine Vétérinaire*. 1998, vol. 133, p.

## Q

59. Quentin R. Écologie bactérienne vaginales : nature, exploration et prise en charge des équilibres. CNGOF, 2006, p.5-16.

## R

60. Robin F, Gibold L, Bonnet R. Intrinsic or acquired resistant to  $\beta$ -lactams in *Enterobacteriaceae*: How to identify them in clinical practice. *Rev Francoph Lab*. 2012, p. 47-58.
61. Rodriguez-Villalobos H, Sturelens M-J. La résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamases a spectre étendu: implication pour le réanimateur. *Réanimation*.2006, vol.15, p. 205-213.
62. Ruppé E. Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*.2010, vol.12, p. 3-16.

## S

63. Sekhsokh Y, Arsalane L, El Ouenass M. Bactériémie à *Serratia rubidaea*. Médecine et maladies infectieuses. 2007, vol.37, p. 287-289.
64. Sekhsokh Y, Chadli M, Elhamzaoui S.A. Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. Médecine et maladies infectieuses, 2008, vol. 38, p. 324-327.

## V

65. Valverde A, Coque T.M, Sanchez-Moreno M.P. Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during nonoutbreak situations in Spain. J Clin Microbiol, 2004, vol.42, p.69-75.
67. Vandepitte J, Verhaegen J. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. World Health Organization. Geneva. 2<sup>ème</sup> Edition, 2003, 20-120.

## W

68. Walsh C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. Nature, 2000, vol. 406, p.775-81.

## Y

69. YA BI FOUA M. Profil antibiotique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. Bamako : Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie, 2006, 131p.
70. Yala D, Merad A, Mohamadi D, Ouar Korich M. Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb. 2001, n° 91, p. 2-13.
71. Yousfi K. Essai de caractérisation biochimique d'un mécanisme de résistance par  $\beta$ -lactamases d'une souche hospitalière d'*Acinetobacter baumannii*. Mémoire de Magister en Microbiologie Appliquée : Université Abderrahmane MIRA de Bejaia, 2010, 61 p.

# ANNEXES

### **Matériels biologiques**

- Des souches d'entérobactéries.
- Des prélèvements (urines, sang, pus, hémoculture).

### **Milieux de cultures utilisées:**

#### **Gélose Mac conkey :**

➤ **Composition:**

- pancreatic Digest of gelatin 17 g
- Peptone (caséine, viande) 3g
- Lactose 10g
- Mélange de sels biliaires 1.5g
- Chlorure de sodium 5.0
- Rouge neutre 0.03g
- Cristal violet 0.001g
- Agar bacteriologique 13.5g

pH final  $7.1 \pm 0.2$  a 25 °C

➤ **Preparation :**

Suspendre 50 g dans un litre d'eau distillé. Chauffer jusqu'à la dissolution totale par agitation.  
Autoclaver a 121 °C pendant 15 min.

#### **Gélose Hecktoen :**

➤ **Composition :**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande 12,0 g
- Extrait autolytique de levure 3,0 g
- Lactose 12,0 g
- Saccharose 12,0 g
- Salicine 2,0 g
- Sels biliaires 9,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Thiosulfate de sodium 5,0 g

- Citrate ferrique ammoniacal 1,5 g
  - Bleu de bromothymol 65 mg
  - Fuchsine acide 40 mg
  - Agar bactériologique 13,5 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$

**Gélose Muller-Hinton:**

➤ **Composition :**

- Hydrolysate acide de caséine 17.5 g
- infusion de viande 2 g
- Amidon soluble 1.5 g
- Agar agar bactériologique 17 g

pH final  $7.3 \pm 0.2$  a 25 °C.

➤ **Préparation :**

Mettre en suspension 38 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. Porter à l'ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète. Autoclaver a 115 °C pendant 15 min

**Gélose nutritive**

➤ **Composition**

- Extrait de viande 1g
- Extrait de levure 2g
- Peptone 5,0g
- Chlorure de sodium 5,0g
- Agar 15g

pH  $6.8 \pm 0.2$  a 25°C

➤ **Préparation**

Suspendre 28 g dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15 min.

**Bouillon nutritif :**

➤ **Composition :**

- L'extrait de viande 3g
- Peptone 5g

➤ **Préparation :**

8 par litre. Autoclaver 20 minutes à 120°C.

**Verreries et appareillages**

- Pipettes Pasteur ;
- Anse de platine ;
- Boîtes de pétri ;
- Lames et lamelles ;
- Étuve ;
- Écouvillons ;
- Pince ;
- Pipette graduée ;
- Autoclave ;

**Colorants et réactifs**

- Violet de gentiane
- Fuschine
- Lugol
- Alcool
- Réactif kovacs
- Réactif TDA
- Réactif VP 1 et 2
- Réactif NIT 1 et 2

Tableau 10: Lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (Bio Mérieux SA)

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultat	
			Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phényle Galactoside	Béta- galactosidase	Incolore	Jaune (1)
<b>ADH</b>	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
<b>LDC</b>	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé (2)
<b>ODC</b>	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
<b>CIT</b>	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert (3)
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé (2)
<b>TDA</b>	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	<b>TDA / immédiat</b>	
			Jaune	Marron foncé
<b>IND</b>	L-tryptophane	Production d'indole	<b>James/ 2 mn</b>	
			Jaune	Anneau rouge
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	<b>VP 1 + VP 2/ 10mn</b>	
			Incolore	Rosé-rouge (5)
<b>GEL</b>	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	D-glucose	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MAN</b>	D-mannitol	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SOR</b>	D-sorbitol	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>RHA</b>	L-rhamnose	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SAC</b>	D-saccharose	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MEL</b>	D-melibiose	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose	Fermentation/oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>Nitrate réductase Tube GLU</b>	Potassium nitrate	Production de NO <sub>2</sub> Réduction au stade N <sub>2</sub>	<b>NIT1 + NIT2 / 2-3 mn</b>	
			Jaune	Rouge
			<b>Zinc / 5mn</b>	
			Rouge/orangé	Jaune

1) Une très légère couleur jaune est également positive.

(2) Une couleur orange apparaissant après 36-48 heures d'incubation doit être considérée négative.

(3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).

(4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

(5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative (**BioMérieux SA**).





République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية  
الجزائرية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية العلوم الطبيعية والحياتية  
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES  
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

## Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(À joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e).

Nom, prénom : *Boutaleb Naïma*

Régulièrement inscrit (e) en *Master au département de biologie appliquée*

N° de carte d'étudiant : *34017033*

Année universitaire : *2018/2019*

Domaine : *Science de la nature et de la vie*

Filière : *Science biologique*

Spécialité : *Microbiologie appliquée*

Intitulé du mémoire :

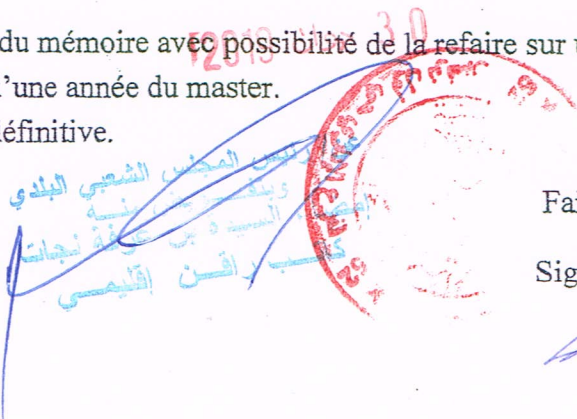
*Caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolées des produits pathologique*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué de vent le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité de plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de la refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année du master.
- L'exclusion définitive.



Fait Tébessa, le *30.06.2019*

Signature de l'étudiant(e).