

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de biologie appliqué

قسم البيولوجيا التطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologique

Spécialité : Microbiologie et hygiène hospitalière

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Les infections à entérobactéries et leurs antibiorésistances au niveau de l'EPH d'El khroub, Constantine

Présenté par : MADDI Safa Nourhane

Le 00/06/2022

MENASRA Lamia

Jury d'évaluation :

Encadreur : Dr. CHENTLI. A (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Dr. BATAICHE. I (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Dr. OUIBRAHIM. A (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire

2021 - 2022

Remerciement

El hamdoulillah on remercie Dieu, le miséricordieux, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce travail.

À notre encadreur, Dr Chentli Amira

Nous vous remercions vivement de nous avoir fait l'honneur de diriger ce travail sans ne jamais épargner aucun effort pour nous guider dans le chemin sinueux de la recherche. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqué.

Veillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

À notre président de jury, Dr BATAICHE I

Nous vous sommes infiniment reconnaissants du grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de cette thèse. Votre savoir, votre dynamisme et votre amabilité ont toujours suscité en nous grande estime. Veuillez trouver ici, le témoignage de notre vive gratitude et haute considération.

À notre examinateur, Dr OUIBRAHIM A

Nous avons le privilège et l'honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner ce travail. Notre gratitude est grande pour l'intérêt que vous avez montré à l'encontre de notre travail.

Nous tenons également à remercier tout le personnel du laboratoire de microbiologie de l'EPH el Khroub pour leur gentillesse et pour nous avoir accueilli au sein de leur laboratoire pour leur bienveillance et leur éclaircissement et leur appui scientifique dans la recherche.

Nous tenons à saisir un remerciement assez spécial pour Nous-mêmes pour toute la patience qu'on a préservé le long de ce semestre et de pouvoir passer tous les obstacles et les difficultés qu'on a pu combattre ensemble tout en gardant le sourire et notre esprit éducatif qui a marqué notre trace durant toutes ces années d'étude.

À nos parents, à nos familles et nos amis qui par leurs prières leur amour leur soutien et leur patience ainsi qu'à leurs encouragements, nous avons pu surmonter tous les obstacles au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci.

Dédicace

Je tien a dédié ce modeste travail à tous ceux qui m'ont encouragé durant toutes mes études .A Dieu, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.

A ma très chère Mère Ghania Laadaci

A celle qui m'a donné la vie, qui a marqué chaque moment de mon existence avec son intarissable tendresse, à celle à qui je dois le meilleur de moi-même. Tu as veillé sur mon éducation et mon bien être avec amour, tendresse, dévouement et perfection.

Tu étais toujours mon refuge qui me prodigue sérénité, soutien et conseils. Tes prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. Tu sais très bien que mon amour et mon respect pour toi sont sans limite et dépassent toute description.

J'espère qu'en ce jour l'un de tes rêves se réalise à travers moi en concrétisant le fruit de tes sacrifices. A toi, je dédie ce travail en gage de mon amour et mon respect les plus profonds. Puisse Dieu te préserver et faire de moi une fille à la hauteur de ton espérance.

Puisse Dieu tout puissant t'accorder longue vie, santé, bonheur pour que notre vie soit un bonheur pour toujours

A mon très cher père Khemissi Menasra

A celui qui m'a aidé à découvrir le savoir, le trésor inépuisable.

De tous les pères, tu as été le meilleur. Depuis ma tendre enfance, tu m'as entouré d'attention, orienté dans la vie. Tu as cru en moi quand j'ai perdu espoir, tu m'as hissé vers le haut quand j'ai baissé mes bras.

Cher papa, tu es un homme de cœur, je ne suis pas la seule à l'affirmer. J'espère pouvoir t'honorer un jour et faire ta fierté comme tu as fait la mienne.

Que Dieu te préserve des malheurs de la vie afin que tu demeures le Flambeau illuminant mon chemin

Ce travail est ton œuvre, toi qui m'a donné tant de choses et tu Continues à le faire...sans jamais te plaindre. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu nous as offerts, mais une vie entière n'y suffirait pas. J'espère au moins que ce mémoire y contribuera en partie...

A ma chère sœur **Imen**, petite fleur dans mon cœur. A ma **grande Mère** maternelle que dieu lui accorde une longue vie. A mon binôme **Safa** avec laquelle j'ai partagé de très bons moments à l'hôpital et à l'université.

A tous mes amies et mes camarades de promo M2 MHH pour les moments inoubliables passés ensemble. A tous ceux qui je n'ai pas cité ici et qui ont une place dans mon cœur.

Lamia.



Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mon Papa, les phrases, les mots ne pourraient exprimer ma gratitude

A mon pilier, mon exemple, mon repère et mon guide

A la personne qui m'a toujours comprise, soutenue

A la personne qui était toujours là pour moi afin de me guider, et me suivre

A mon modèle, à mon papa adoré Mr. Abdelhak

A la plus belle créature que dieu a créée sur terre

A La personne la plus précieuse dans mon cœur

A celle qui m'a donnée la force, le courage,

A mon exemple

A mon ombre, celle qui me soutient dans tout ce que j'entreprends

A cette source de tendresse, de patience, d'amour, de générosité

A la personne qui a donné sens à ma vie

A ma maman d'amour Boudra Farah Diba.

A mes petites sœurs les prunelles de mes yeux, *Ahlam* et *Hanine*.

A mon cher seul frère *Mohamed El Hassene*.

A toute ma famille et mes cousines.

A mes amies et mes camarades.

Sans oublier les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Maddi Safa Nourhane.

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Introduction 1.

La synthèse *bibliographique*

Chapitre 01: les entérobactéries

1 Généralités sur les entérobactéries..... 2.

1.1 Historique 2.

1.2 Taxonomie..... 2.

1.3 Définition 4.

1.4 Habitat 5.

1.5 Les caractères bactériologiques..... 5.

1.5.1 Les caractères morphologiques 5.

1.5.2 Les caractères cultureux 5.

1.5.3 Les caractères biochimiques 6.

1.5.4 Les caractères antigéniques..... 7.

2 Entérobactéries en médecine 7.

2.1 Entérobactéries pathogènes 7.

2.1.1 Pathogènes opportunistes 7.

2.1.2 Pathogènes spécifiques 8.

2.2 Facteurs de virulence..... 8.

2.3 Infections dues aux entérobactéries..... 8.

Table des matières

2.3.1	Infections communautaires	9.
2.3.2	Infections nosocomiales	9.
2.3.3	Infections urinaires.....	9.
2.3.4	Les infections pulmonaires	10.
2.3.5	Les Infections du Site opératoire	10.
2.4	Les différents genres des entérobactéries en milieu hospitalier	10.
2.4.1	<i>Escherichia</i>	10.
2.4.2	<i>Klebsiella</i>	11.
2.4.3	<i>Proteus</i>	11.
2.4.4	<i>Enterobacter</i>	11.
2.4.5	<i>Citrobacter</i>	12.
2.4.6	<i>Morganella</i>	12.
2.4.7	<i>Salmonella</i>	12.
2.4.8	<i>Shigella</i>	13.

Chapitre 02 : Antibiorésistance des entérobactéries

1	Les antibiotiques	15.
1.1	Définition	15.
1.2	Classification.....	15.
1.3	Mécanismes d'action des antibiotiques.....	15.
2	Les principaux antibiotiques utilisés et leurs modes d'action	16.
2.1	Les β -lactamines.....	16.
2.2	Les aminosides ou les aminoglycosides.....	19.
2.3	Les quinolones/fluoroquinolones	20.

Table des matières

2.4	Rifampicine	21.
3	Résistance des entérobactéries aux antibiotiques	22.
3.1	Notions de l'antibiorésistance	22.
3.1.1	Résistance naturelle.....	23.
3.1.2	Résistance acquise.....	23.
4	Mécanismes de résistance.....	24.
4.1	Différentes mode de transferts horizontaux	24.
4.1.1	Transformation.....	24.
4.1.2	Transduction.....	24.
4.1.3	Conjugaison	24.
4.2	Mécanismes de résistances des entérobactéries	25.
4.2.1	Résistance aux β -lactamines	25.
4.2.2	Résistance aux aminosides.....	25.
4.2.3	Résistances aux quinolones.....	26.

Matériel et méthodes

1	Lieu de stage	28.
2	Durée et type d'étude.....	28.
3	Population étudiée.....	28.
4	Critère d'inclusion et d'exclusion.....	28.
4.1	Critère d'inclusion.....	28.
4.2	Critères d'exclusion.....	29.

5	Considérations éthiques.....	29.
6	Méthodologie de laboratoire	29.
6.1	Etude des produits pathologiques.....	29.
6.1.1	Cas des ECBU.....	29.
6.1.2	Cas des hémocultures.....	30.
6.1.3	Cas des Pus et liquides de ponction	31.
6.1.4	Cas de Prélèvement Vaginal	32.
6.1.5	Cas de LCR	34.
6.2	Identification bactérienne	35.
6.2.1	Appréciation macroscopique.....	35.
6.2.2	Examen microscopique	35.
6.2.3	Identification biochimique	36.
6.3	Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme ».....	39.
7	Saisie et analyse des données.....	41.

Résultats et discussion

1	Identification bactérienne	42.
1.1	Aspect macroscopique.....	42.
1.2	Aspect microscopique	42.
1.3	Identification biochimique des souches bactériennes	43.
2	Détermination du profil d'antibiorésistance	44.
3	Répartition des Entérobactéries selon différents facteurs	46.

Table des matières

3.1	Répartition des infections à entérobactéries selon les services	46.
3.2	Répartition des infections à entérobactéries selon le sexe	47.
3.3	Répartition des infections à entérobactéries selon la nature des prélèvements .	48.
3.4	Répartition des entérobactéries selon l'espèce bactérienne	48.
3.5	Taux de résistance des entérobactéries aux antibiotiques	49.
3.5.1	Taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i>	49.
3.5.2	Taux de résistance de <i>Klebsiella sp.</i>	51.
3.5.3	Taux de résistance de <i>Morganella sp.</i>	53.
3.5.4	Taux de résistance de <i>Proteus sp.</i>	54.
3.5.5	Taux de résistance d' <i>Enterobacter sp.</i>	55.
3.5.6	Taux de résistance de <i>Serratia sp.</i>	56.
Conclusion.....		57.
Références bibliographiques.....		58.
Annexes		
Résumé		
Abstract		
ملخص		

Liste des figures

Figure 1 : structure des <i>Enterobacteriaceae</i>	4
Figure 2 : mécanismes d'action des antibiotiques.....	16
Figure 3 : représentation du noyau bêta lactame.....	17
Figure 4 : structure de quelques β -lactamines.....	18
Figure 5 : dstructure de quelques aminosides: le cycle central DOS est indiqué en bleu.....	19
Figure 6 : structure de quelques fluoroquinolones.....	21
Figure 7 : structure de la rifampicine.....	22
Figure 8 : inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	25
Figure 9 : dépôt de la goutte d'urine sur la lame.....	29
Figure 10 : ensemencement de la goutte d'urine sur le milieu gélose nutritive.....	30
Figure 11 : la cellule de nageotte.	34
Figure 12 : image d'identification d'une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> avec la galerie API 20E.....	37
Figure 13 : aspect macroscopique des colonies sur gélose nutritive.....	42
Figure 14 : aspect macroscopique des colonies sur milieu BCP.....	42
Figure 15 : observation microscopique des bacilles à l'état frais.....	43
Figure 16 : observation microscopique après coloration de Gram.	43
Figure 17 : caractères biochimiques de l'espèce <i>Enterobacter cloacae</i> par la galerie .biochimique classique.	44
Figure 18 : antibiogramme d' <i>Enterobacter cloacae</i>	44
Figure 19 : répartition des infections à entérobactéries selon les services.....	46
Figure 20 : répartition des cas positifs d'infections à entérobactéries selon le sexe.....	47
Figure 21 : répartition des entérobactéries selon la nature de prélèvements.	48
Figure 22 : répartition d'infection à entérobactéries selon l'espèce.	49
Figure 23 : le taux résistance des souches d' <i>E. coli</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.....	50
Figure 24 : taux de résistance des souches de <i>Klebsiella sp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	52
Figure 25 : taux de résistance des souches de <i>Morganella sp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.....	53
Figure 26 : taux de résistance des souches de <i>Proteus sp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	54
Figure 27 : taux de résistance des souches d' <i>Enterobacter sp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.....	55
Figure 28 : taux de résistance des souches de <i>Serratia sp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	56

Liste des tableaux

Tableau 1 : subdivisions hiérarchiques de la classification des entérobactéries.....	3
Tableau 2 : classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine.....	3
Tableau 3 : principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries.....	6
Tableau 4 : phénotypes de résistance des entérobactéries aux aminosides	26
Tableau 5 : liste des antibiotiques utilisés.....	40
Tableau 6 : caractères biochimiques des souches d'entérobactéries isolées.....	43

Liste d'abréviations

AAC : acétylstranférases

AC : acide clavulanique

ADN : acide Désoxyribonucléique

AK : amikacine

AMP : ampicilline

AMX : amoxicilline

ANT: nucléotidyltransférases

APH : phosphotransférases

API 20 E : appareils et Procédés d'Identification pour les entérobactéries

ARN : acide Ribonucléique

BCP : bromo Crésol Pourpre

C1G : céphalosporine de 1ère génération.

C2G : céphalosporine de 2ème génération.

C3G : céphalosporine de 3ème génération.

C4G : céphalosporine de 4ème génération.

CF : céfalotine

CIP : ciprofloxacine

CIT : citrate

Citro : *citrobacter*

CMI: concentration minimale inhibitrice

CN : gentamicine

CRO : céftriaxone

CT : colistine

CTX : céfotaxime

CZ : céfazoline

Liste d'abréviation

DOS : desoxystreptamine

E. Coli : *Escherichia coli*

ECA : enterobacterial Common Antigen

ECBU : examen Cytobactériologique des Urines.

Entero : *Enterobacter*

EPH : l'établissement public hospitalier

Esch : *escherichia*

FOS : fosfomycine

FOX : cefoxitine

GEL : gélatine.

GLU : glucose.

GSC : gélose au sang cuit.

GSF : gélose au sang frais.

GSO : gélose au sang

H₂S : thiosulfate de sodium

I : intermédiaire

IN : infection nosocomiale

IND : tryptophane

IST : infection sexuellement transmissible

K : kanamicine

Kleb : *Klebsiella*

LDC : lysine décarboxylase.

LPS : lipopolysaccharide.

MH : mueller-Hinton

Mob : mobilité

Morg : *Morganella*

NH₂ : des groupements aminés

Liste d'abréviation

NM : tobramycine

ODC : ornithine décarboxylase.

OH : groupements hydroxyles

ONPG : ortho NitroPhenyl Galactoside

P. mirabilis : *Proteus mirabilis*

pH : potentiel Hydrogène ; unité de mesure d'acidité.

PLP : les protéines de liaison à la pénicilline.

PRL : pipéracilline

Prot : *Proteus*

Prov : *Providencia*

R : résistante

S : sensible

S. enterica : *Salmonella enterica*

Sab : sabauroud

Salm : *Salmonella*

Serr : *Serratia*

Shig : *Shigella*

TDA : tryptophane désaminase

TIC : ticarcilline

UFC : unité Formant Colonie

URE : urée

VP : vosges-Proskaue.

Yers : *Yersinia*

Zn²⁺ : ion métallique

β-lactamase : béta lactamase

β-lactame : béta lactame

β-lactamines : béta lactamines

Introduction

Introduction

L'hôpital est un lieu où l'on traite mais c'est également un lieu où le risque d'infection est très important et où les germes deviennent de plus en plus résistants. De ce fait, les infections contractées au niveau de l'hôpital sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique de par leur fréquence, leur coût et leur gravité qui touche aussi bien les patients et leurs entourages que l'ensemble des professionnels de santé (**Méité et al., 2010**).

Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, on retrouve les entérobactéries. Ces dernières représentent l'un des groupes les plus redoutables et le plus fréquemment isolé en milieu hospitalier, causant des infections nosocomiales ou communautaires telles que les infections pulmonaires, urinaires, digestives... (**Verhaegen, 2002**).

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries à Gram-négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts (**Mirabaud, 2003**), tous ces germes ont en commun leur localisation habituelle au niveau du système digestif, d'où leur appellation « Entérobactéries »

Depuis l'introduction des antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique des maladies infectieuses, les microorganismes ont développé des moyens de défense leur conférant une insensibilité aux antibactériens. Toutes les espèces ou germes bactériens sont concernés par le phénomène de la résistance aux antibactériens posant, parfois de véritables problèmes thérapeutiques (**Bryskier, 1999**).

La résistance aux antimicrobiens est un problème important dans le monde. La réalité de cette menace a été récemment reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans son rapport de 2014 sur la résistance aux antibiotiques (**OMS, 2014**). Des rapports très médiatisés en 2016 ont mis en garde contre les dangers de l'inaction. Près de 700 000 décès dans le monde pourraient être imputables à la résistance aux antimicrobiens (**Jim, 2016**). En effet, ces dix dernières années ont été marquées par l'émergence et la dissémination de nouveaux gènes de résistance. Les défis majeurs de cette résistance ont été rencontrés principalement chez différentes espèces d'entérobactéries (**Patricia, 2001**).

Dans ce contexte, les objectifs de ce présent travail sont:

- L'isolement et l'identification des entérobactéries impliquées dans les infections chez les patients admis au niveau de l'EPH El khroub et les malades extrahospitalières.
- La Détermination des profils de résistance de ces bactéries vis-à-vis aux antibiotiques.

La synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Les entérobactéries

1 Généralités sur les entérobactéries

Les entérobactéries ou (*Enterobacteriaceae*) constituent une famille bactérienne hétérogène très importante, qui regroupe plus d'une quarantaine de genres et plusieurs dizaines d'espèces, le nom d'Entérobactérie fait référence aux Entérocytes (cellule intestinale) car les bactéries appartenant à cette famille sont généralement des hôtes commensaux ou pathogènes. Elles participent aux grands cycles de dégradation des matières organiques mais sont aussi des agents causaux responsables d'infections communautaires et nosocomiales (Pilly, 2013).

1.1 Historique

La naissance de la famille des *Enterobacteriaceae* se situe en 1937, lorsque **Otto Rahn** proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper des micro-organismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes et parmi lesquelles on trouvait déjà des noms tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, ou *Shigella*. Deux années après cette description qui concernait 112 espèces, ce nombre fut ramené à 67.

Avec les travaux de **Don Brenner** et de **Patrick Grimont**, cette famille a connu beaucoup de nouveaux genres et d'espèces qui furent alors découvertes.

En 1972, **Edward** et **Ewing** intégraient 11 genres et 26 espèces dans la famille des *Enterobacteriaceae*. Une année après, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés.

En 1985, **Farmer** et **Coll** décrivaient 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques.

En 1997, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés (Freney *et al.*, 2000).

1.2 Taxonomie

La classification des genres, espèces, sous espèces, bio-groupes et sérotypes d'entérobactéries a longtemps été uniquement basée sur des caractéristiques biochimiques et antigéniques (Freney *et al.*, 2000). Si le nom de famille est toujours maintenu, en revanche le classement (Tableau 01) des bactéries dans la famille a beaucoup évolué (Joly *et al.*, 2007).

Tableau 1 : Subdivisions hiérarchiques de la classification des entérobactéries (**Boone et al., 2001**).

Rangs taxonomiques	Classification
Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

La famille comprend 130 espèces actuellement répertoriées (**Khayar, 2011**). Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique (**Tableau 02**) appartiennent à 12 Genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (**Pilet, 1979**).

Tableau 2 : Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine (**Perriere, 1992**).

	Tribu	Genre	Espèce
Groupe 1	<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
Groupe 2	<i>Escherichieae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonne</i>
	<i>Levineae</i>	<i>Levinea</i>	
Groupe 3	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
Groupe 4	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
Groupe 5	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	

1.3 Définition

Le nom d'entérobactéries a été donné car ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, suivant les espèces microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux. Les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène regroupant un grand nombre d'espèce. Au niveau phénotypique, ce sont des bacilles Gram négatif droits ; mobiles par flagelles péritriches, ou immobiles (**Figure1**) ; non sporulés ; aérobies facultatifs, produisant de l'acide à partir du glucose ; pas de besoin en sodium, ni de stimulation ; catalase positive ; oxydase négative ; réduisent habituellement les nitrates en nitrite (pas en N₂) (**Madigan, 2007 ; Cristian, 2008**).

Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis, comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la production d'indole, la production d'uréase, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases)...etc. (**Meziani, 2012**).

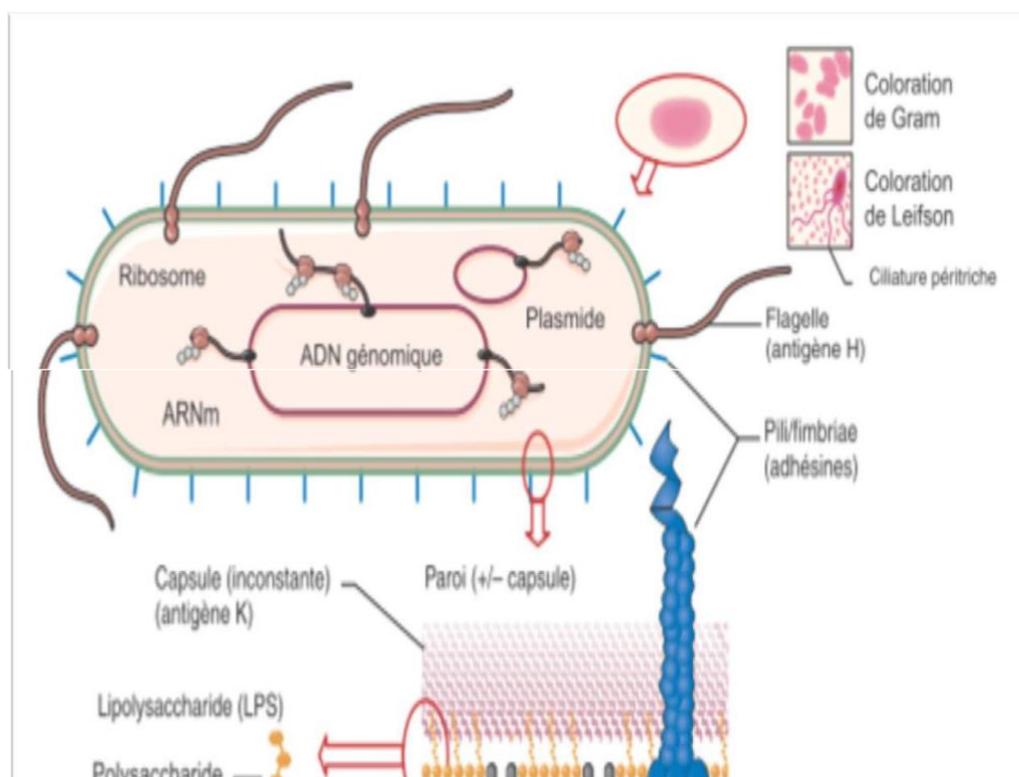


Figure 1 : structure des *Enterobacteriaceae* (**Denis et al., 2007**).

1.4 Habitat

Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires avec un habitat très large. Ce sont des hôtes normaux ou pathologiques du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux à sang chaud relativement peu rencontrées dans d'autres sites du corps. Dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10% de la flore totale (**Guiraud, 2012**).

Cette localisation digestive n'est pas exclusive. Les entérobactéries sont également retrouvées dans l'environnement (sol, eau...), sur les végétaux.

1.5 Les caractères bactériologiques

1.5.1 Les caractères morphologiques

Ce sont des bacilles à gram négatif dont les dimensions varient de 2-3 μ de long et 0,6 μ de large, généralement polymorphes, mobiles ou immobiles grâce à une ciliature péritriche, ce sont des aéro-anaérobies facultatifs. La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez les *Klebsiellas*, la plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion (**Achkour, 2012**).

1.5.2 Les caractères cultureux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose. La culture est également possible entre 20 et 40°C sur milieux gélosés. On distingue les formes de colonies suivantes:

- **Formes S (smooth):** sont l'aspect habituel à la sortie de l'organisme. Les colonies sont rondes, lisses, bombées, blanches voire translucides, brillantes et humides. Elles ont entre 2 et 4 mm de diamètre.
- **Formes R (rough):** s'observent surtout avec des souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont vieilles ou anormales, rugueuses, sèches, à contours plats irréguliers et de teinte mate.
- **Formes M (muqueuses):** Les colonies sont plus grosses (le diamètre peut dépasser 10 mm); elles ont une tendance à la confluence. Certaines bactéries ont toujours cet aspect tel que les *Klebsiella*. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, comme *Salmonella paratyphi B*.

La synthèse bibliographique

- **Colonies naines:** s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. Elles ne sont pas exceptionnelles chez les espèces d' *E. coli* isolés d'infections urinaires. (Freney *et al*, 2000 ; Avril, 2000).

1.5.3 Les caractères biochimiques

La distinction entre les genres et les espèces se fait par l'étude des caractères biochimiques (**Tableau 03**) qui sont : l'utilisation du citrate de Simmons comme seule source de carbone, la production d'uréase, la capacité à fermenter le glucose, la capacité à réduire les nitrates en nitrite, la fermentation du lactose, la production d'indole, la production d'acétoïne, et la désamination du tryptophane (Avril *et al*, 2000).

Tableau 3 : Principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries (Decoster *et al.*, 2006).

	Esch	Citro	Entero	Kelb	Serr	Salm	Shig	Prot	Prov	Yers	Morg
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+	-
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-	+
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
Citr	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-	-
Mob	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
H₂S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	+

ONPG = Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP = Voges Proskauer ; Citr = citrate ; Mob = mobilité ; TDA = Tryptophane désaminase ; H₂S = Hydrogène sulfureux ; *Esch* = *Escherichia* ; *Citro* = *Citrobacter* ; *Entero* = *Enterobacter* ; *Kleb* = *Klebsiella* ; *Serr* = *Serratia* ; *Salm* = *Salmonella* ; *Shig* = *Shigella* ; *Prot* = *Proteus* ; *Prov* = *Providencia* ; *Yers* = *Yersinia* ; *Morg* = *Morganella* ; (+) = positif ; (+/-) = variable ; (-) = négatif.

1.5.4 Les caractères antigéniques

Les entérobactéries possèdent différents antigènes :

- L'antigène de Kunitz : c'est un antigène commun dénommé ECA (pour Enterobacterial Common Antigen). Il n'existe que chez les entérobactéries.

- Les antigènes O ou somatiques : ces antigènes correspondent aux polysides fixés sur les LPS. Ils sont thermostables et résistent à l'alcool.

- L'antigène R : il correspond au polysaccharide du core central, auto agglutinable dans l'eau physiologique, plus sensibles aux substances bactéricides du sérum, plus facilement phagocytées et donc moins pathogènes.

- Les antigènes H ou flagellaires : ils n'existent que chez les souches mobiles. Constitués de protéines spécifique dénommée flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.

- Les antigènes de surface : ils comprennent :

- Les antigènes K ou capsulaire : ils sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique.

- Les antigènes d'adhérence ou adhésines : Ils sont de nature protéique, portés par des pili communs (encore appelés fimbriae) (**Bouazza et al, 2016 ; Konare, 2017**).

2 Entérobactéries en médecine

Les entérobactéries constituent, en clinique humaine, la famille à l'origine des infections les plus fréquentes et dont la mortalité est la plus élevée (**Nordmann, 2011**).

2.1 Entérobactéries pathogènes

Elles sont de 2 types :

2.1.1 Pathogènes opportunistes

Ce sont des bactéries présentes au niveau intestinal mais qui peuvent, à des degrés variables, devenir agressives pour l'homme. On les dit "pathogènes opportunistes". La

La synthèse bibliographique

fréquence de leurs manifestations pathologiques est en augmentation, car souvent due à l'existence chez ces espèces de plasmides de résistance aux antibiotiques permettant leur sélection et favorisant à leur avantage les dysmicrobismes. Ce caractère est particulièrement vérifié avec l'espèce *Klebsiella pneumoniae*, hôte des voies respiratoires, il peut être responsable d'infections (**Brrehil et al., 2018**).

2.1.2 Pathogènes spécifiques

Ce sont des bactéries non présentes au niveau intestinal qui dès qu'elles sont retrouvées dans l'organisme sont responsables d'infections plus ou moins graves. Comme: *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* et *Yersinia* (**Brrehil et al., 2018**).

2.2 Facteurs de virulence

Les souches pathogènes diffèrent des souches commensales par l'expression de facteurs de virulence dont les gènes sont le plus souvent situés sur des plasmides. On distingue :

- ✓ **Antigènes d'adhésion ou adhésines:** représentés par les fimbriae qui permettent à la bactérie d'adhérer aux cellules (urinaires, entérocytes).
- ✓ **Toxines:** Il existe de nombreux types des toxines, certaines sont voisines de celles des Shigelles (Shiga-like toxins), d'autres de celles du vibron cholérique.
- ✓ **Enzymes inactivant les antibiotiques:** qui confèrent un mécanisme de résistance aux bactéries. Les plus connues sont les bêta-lactamases (pénicillinases, céphalosporinases) et les enzymes inactivant les aminosides (**Brrehil et al., 2018**).

2.3 Infections dues aux entérobactéries

Les entérobactéries représentent la flore endogène de l'intestin. Elles sont à l'origine d'un grand nombre d'infections communautaires et d'infections nosocomiales (**Pilly, 2013**).

Elles induisent un risque de complications sévères pour d'autres maladies. Leurs portes d'entrée les plus fréquentes sont les voies urinaires et digestives. Chez l'homme, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, *Proteus sp*, *Providencia sp*, et *Serratia marcescens*, sont responsables d'environ 50 % des infections nosocomiales (**Habi, 2009**).

2.3.1 Infections communautaires

Les infections communautaires à entérobactéries sont dues essentiellement à *E. coli*, *Proteus* et *Klebsiella pneumoniae* (**Collège national des enseignants de réanimation médicale, 2005**).

2.3.2 Infections nosocomiales

Une infection nosocomiale (IN) est une infection survenant après 48 heures suivant l'admission du patient et qui n'était ni présente, ni en incubation durant cette période. (**Bricaire et al., 2007**).

La surveillance des infections nosocomiales (IN) en réanimation est prioritaire car le risque est bien supérieur à celui encouru par les patients en hospitalisation conventionnelle (**Savey et al., 2015**).

On distingue plusieurs types d'infections nosocomiales qui relèvent de modes de transmission différents :

- **Infections d'origine « endogène »** : le malade s'infecte avec ses propres germes, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière.
- **Infections d'origine « exogène »** : il peut s'agir, soit d'infection croisée, transmises d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical, soit d'infections provoquées par les germes du personnel porteur ou bien des infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, alimentation,...).

2.3.3 Infections urinaires

L'infection urinaire correspond à l'agression d'un ou plusieurs organes de l'appareil urinaire qui sont les reins, la vessie et l'urètre. Elle se caractérise par une multiplication de microorganismes (bactériurie) accompagnée d'une réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes (leucocyturie) générant des symptômes de nature et d'intensité variables selon le terrain (**Malki et al., 2019**).

La synthèse bibliographique

L'infection urinaire associe au moins un des signes suivants : fièvre (>38°C), impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlures mictionnelles ou douleur sus-pubienne **(Benbella, 2016)**.

L'infection urinaire peut être localisée dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, épiddymite), ou haute (pyélonéphrite) **(François et al., 2013)**.

Escherichia coli est responsable de la moitié des cas d'IUN suivi par *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus* et *Proteus mirabilis* **(Daniau et al, 2012)**.

2.3.4 Les infections pulmonaires

Les IN pulmonaires regroupent les pneumopathies ainsi que les autres infections des voies respiratoires, comme par exemple : bronchite, bronchiolite...Deuxième cause d'IN tout site confondu.

Le cas des pneumopathies dites tardives, des bacilles Gram négatif sont le plus fréquemment isolés. Des entérobactéries (*Klebsiella*, *E.coli* ou encore *Enterobacter*) représentent l'ensemble des microorganismes responsables de pneumopathies nosocomiales. **(Brunbuisson, 1998)**

2.3.5 Les Infections du Site opératoire

Les infections du site opératoire (ISO) se classent ainsi en troisième position des IN les plus fréquentes.

Les principaux micro-organismes isolés sont *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Toutefois il est possible de retrouver une répartition différente selon le type de chirurgie **(Daniau et al, 2012)**.

2.4 Les différents genres des entérobactéries en milieu hospitalier

Les entérobactéries peuvent être à l'origine de diverses maladies infectieuses, notamment en milieu hospitaliers. Parmi les genres les plus fréquents on cite :

2.4.1 *Escherichia*

Hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, c'est l'espèce aérobie la plus représentée dans le tube digestif. Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E. coli*, *E.*

La synthèse bibliographique

albertii, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulneris*, *E. blattae*. Cependant, au sein de ce genre, l'espèce *E. coli* représente la quasi-totalité des isolats humains. L'espèce *E. coli* présente une grande diversité sur le plan génétique et sur le plan pouvoir pathogène (Denis *et al.*, 2007).

Isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (Avril *et al.*, 2000).

2.4.2 *Klebsiella*

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés. On distingue cependant plusieurs espèces mais *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine (Kumar *et al.*, 2011).

2.4.3 *Proteus*

Le genre *Proteus* a été découvert par un pathologiste allemand nommé Gustav Hauser en 1885 et qui a donné le nom à cette bactérie qui se caractérise par l'envahissement de la gélose (Hauser, 1885). Ce sont des bactéries commensales du tube digestif, très mobiles, aéro-anaérobies qui se distinguent facilement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques (uréase+, tryptophane désaminase+) et leur résistance naturelle à la colistine. Il existe quatre espèces de *Proteus* : *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *Proteus hauseri*.

2.4.4 *Enterobacter*

Enterobacter est un genre de bactéries chimio-hétérotrophes. L'habitat est l'intestin de l'homme et des animaux, *Enterobacter* est aussi trouvé dans les selles, les eaux d'égouts, le sol, les produits laitiers. Certaines souches du genre *Enterobacter* peuvent être responsables d'infections nosocomiales.

Enterobacter cloacae est l'espèce la plus fréquemment isolée au sein du genre *Enterobacter* (Souna, 2015). *E. cloacae* est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales et colonise généralement la flore intestinale endogène des patients hospitalisés, mais peut également se trouver comme source d'épidémie ou de diffusion de patient à patient (Qureshi *et al.*, 2011). *E. cloacae* est une bactérie pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations

La synthèse bibliographique

diverses (**Iabadene et al., 2010**). Elle peut causer également de nombreux types d'infections telles que les abcès cérébraux, les septicémies, des infections de plaies, des infections de la cavité abdominale ou des intestins (**Farmer et al., 2007**).

2.4.5 *Citrobacter*

Les bactéries du genre *Citrobacter* sont des bacilles droits appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bactéries à Gram négatif. Le phénotype des bactéries appartenant à ce genre bactérien n'est pas décrit en raison de certains caractères variables.

C. freundii est un agent pathogène nosocomial opportuniste qui entraîne des infections des voies urinaires, des bactériémies, des sepsis abdominaux, des abcès cérébraux, des pneumonies et d'autres infections néonatales comme la méningite, le sepsis neonatal, l'infection articulaire (**Doran, 1999; Pepperell et al., 2002 ; Ryan, 2004**). Les infections du système nerveux central (SNC) sont plus courantes chez les nourrissons de moins de 2 mois que chez les enfants plus âgés et les adultes immunodéprimés (**Holmes et Aucken, 1998 ; Ryan, 2004**).

2.4.6 *Morganella*

Morganella est un genre de bacilles Gram négatifs (BGN) de la famille des *Morganellaceae*, proche des genres *Proteus* et *Providencia* avec lesquels il forme la tribu des *Proteeae*

Morganella morganii est impliquée dans les infections des voies urinaires, des voies hépatobiliaires, les infections de la peau et des tissus mous. Elle occasionne des infections opportunistes chez des patients immunodéprimés telles que les infections extra-intestinales ou encore les infections materno-fœtales (**Falagas et al., 2006**). *M. morganii* se trouve dans l'environnement et dans les voies intestinales des humains, des mammifères et des reptiles par conséquent, la plupart des cas de bactériémie à *M. morganii* sont des infections opportunistes acquises dans la communauté (**Lee et al., 2006**).

2.4.7 *Salmonella*

Les salmonelles sont des entérobactéries, pour la plupart pathogènes pour l'homme, agent de nombreuses infections comme les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, de gastro-entérites et de toxi-infections alimentaires parfois collectives. Ces maladies sont à déclaration obligatoire (**Cristian, 2008**). Les hybridations ADN/ADN (Acide Désoxyribonucléique) ont

La synthèse bibliographique

démontré que toutes les souches de salmonelles appartenaient à deux espèces, *Salmonella enterica* et *Salmonella bongorii*, qui est exceptionnellement isolée chez l'homme. L'espèce *S. enterica* est divisée en six sous espèces (**Denis et al., 2007**).

2.4.8 Shigella

Les Shigelles sont des bactéries qui affectent uniquement les humains. Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale. On ne les retrouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains. Elles sont responsables de l'historique « dysenterie bacillaire » qui décimait les armées en campagne (**Minor et Veron, 1989**).

Les Shigella provoquent des ulcérations de la muqueuse intestinale et une réaction inflammatoire. Les moins rares sont les infections urinaires. On observe parfois des formes bactériémiques, des arthrites, des méningites (**Fauchere et Avril, 2002**).

Chapitre 02 :

Antibiorésistance des

entérobactéries

1 Les antibiotiques

1.1 Définition

Un antibiotique peut être défini comme étant tout composé chimique d'origine naturelle, semi synthétique ou synthétique qui en solution très diluée est capable de détruire les microorganismes ou d'inhiber leur croissance (**Van Bambeke et Tulkens, 2008**). Il doit avoir une toxicité sélective envers l'agent infectieux sans toutefois affecter l'organisme hôte infecté par les germes pathogènes (**Gautier, 2007**). La spécificité d'action des antibiotiques s'appuie sur les différences métaboliques et structurales existantes entre les cellules procaryotes et eucaryotes. L'ensemble des bactéries affecté par un antibiotique donné est appelé le spectre d'activité de cet antibiotique. Les antibiotiques efficaces contre de nombreuses bactéries Gram positif et négatif sont dits à "large spectre", tandis que ceux actifs uniquement contre certaines bactéries Gram positif ou Gram négatif sont dits à "spectre étroit" (**Walsh, 2003**).

1.2 Classification

La classification des antibiotiques repose sur leur :

- ✓ **Mode d'action** : action sur la paroi, la membrane cytoplasmique, etc.
- ✓ **Spectre d'activité** : sur les cocci gram positives, les cocci gram négatives ou autres.
- ✓ **Origine de la molécule** : naturelle, synthétique ou semi synthétique.
- ✓ **Structure chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (exemple : cycle β -lactamase) (**Brahmia et al., 2016**).

1.3 Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques, contrairement aux antiseptiques, agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises (**Figure 2**) telles que la synthèse de la paroi (betalactamines, glycopeptides, fosfomycine), la réplication/transcription de l'ADN (4-quinolones, rifampicine, sulfamides, triméthoprime), la synthèse protéique (aminosides, tétracycline, macrolides et apparentés, chloramphénicol) ou encore la respiration cellulaire (polymyxines, daptomycine).

La synthèse bibliographique

Pour exercer leur action, ils doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques le plus souvent intracellulaires (**Courvalin *et al.*, 2006**).

Les antibiotiques les plus utilisés pour lutter contre les infections humaines interfèrent avec les réactions structurales ou physiologiques qui sont particulières aux pathogènes infectieux. Ceci est possible car les bactéries sont physiologiquement très différentes des eucaryotes. Par conséquent, les antibiotiques antibactériens peuvent exploiter ces différences et détruire les « envahisseurs » sans dommages significatifs à l'hôte-humain (**Perry *et al.*, 2004**).

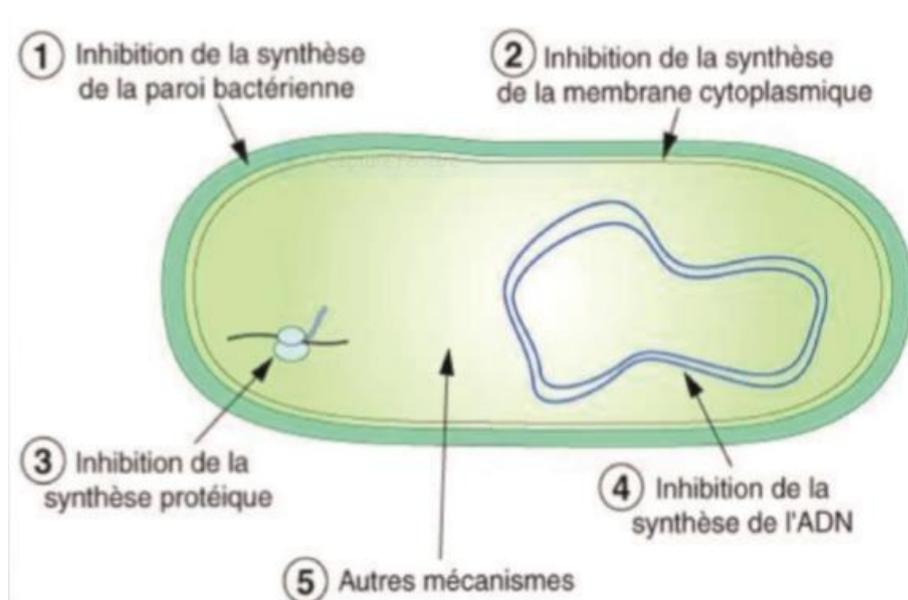


Figure 2 : Mécanismes d'action des antibiotiques (**Mounkoro *et al.*, 2015**).

2 Les principaux antibiotiques utilisés et leurs modes d'action

2.1 Les β -lactamines

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leur indication en thérapeutique (**Livermore, 1995**). Ce sont des antibiotiques caractérisés par la structure de base : le noyau β -lactame (**Figure 3**), elles sont subdivisées en 4 groupes majeurs (**figure 4**):

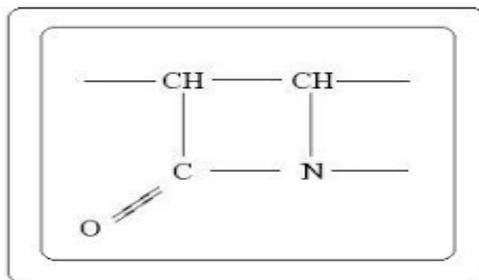


Figure 3 : Représentation du noyau bêta lactame (**Lagha, 2015**).

- **Les pénames**: principalement les pénicillines (ampicilline et dérivés, Ticarcilline), et Oxapénames (Acide clavulanique (AC), AC + Amoxicilline, AC + Ticarcilline).
- **Les céphèmes** : comprennent principalement les céphalosporines, qui sont classées en 4 générations (C1G (Céphalosporine de 1 ère génération.), C2G (Céphalosporine de 2 ème génération.), C3G (Céphalosporine de 3 ème génération.) et C4G (Céphalosporine de 4 ème génération)).
- **Les pénèmes**: Carbapénèmes (Imipénème) sont des antibiotiques à large spectre.
- **Les β -lactamines monobactames**: Monobactames et Aztéréonam. La grande variété de leur mode d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent l'importance de leur utilisation seule ou en association (**Cavallo *et al.*, 2004**).

La synthèse bibliographique

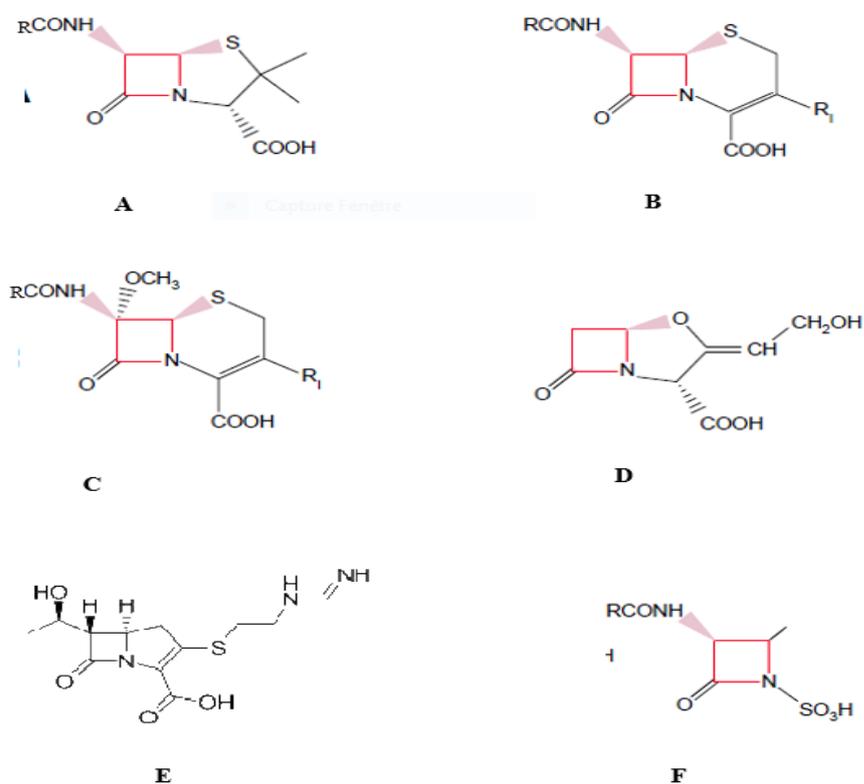


Figure 4 : Structure de quelques β -lactamines (Bryskier, 1999).

A : pénicillines ; B : céphalosporines ; C : céphamycines ; D : acide clavulanique ; E : imipénème ; F : monobactame.

Les β -lactamines traversent la paroi bactérienne et se fixent sur des protéines cibles que sont les Protéines liant les Pénicillines (PLP). Ces PLP sont un groupe d'enzymes regroupant les transpeptidases, transglycosylases et carboxypeptidases, impliquées dans la synthèse et le remodelage du peptidoglycane, constituant principal de la paroi bactérienne. La fixation des β -lactamines sur les PLP est facilitée parce que les β -lactamines présentent une analogie structurale entre le noyau β -lactame et le dipeptide terminal D-alanyl-D-alanine, du pentapeptide constitutif du peptidoglycane (Stratton, 2000).

En se fixant sur les PLP, les β -lactamines vont subir l'ouverture de leur cycle et bloquer le fonctionnement de ces enzymes. L'inactivation principalement des transpeptidases déclenche un ensemble de réaction qui aboutit à l'inactivation des inhibiteurs des autolysines bactériennes. Et, ce sont ces autolysines qui vont alors dégrader le peptidoglycane, entraînant finalement la lyse bactérienne et l'effet d'auto-suicide (Stratton, 2000).

2.2 Les aminosides ou les aminoglycosides

Les aminosides, également appelés aminoglycosides sont des molécules naturelles produites par des actinomycètes ou obtenus par hémisynthèse. Elles sont constituées de deux ou plusieurs sucres aminés liés par une fonction glycosidique à un noyau hexose (**Figure 05**). Ce sont des oligosaccharides basiques, polaires et hydrophiles qui sont d'un point de vue structural, organisés autour d'un cycle central caractéristique de type aminocyclitol sur lequel sont greffés divers sucres aminés (**Mingeot-Leclercq *et al.*, 1999**). Les aminosides ont un large spectre antibactérien particulièrement contre les bactéries Gram négatif, peu sensibles aux pénicillines et aux sulfamides.

Elles sont majoritairement bactéricides avec une action rapide et dose dépendante qui constitue l'un de leurs grands avantages thérapeutiques (**Vakuleko *et al.*, 2003**).

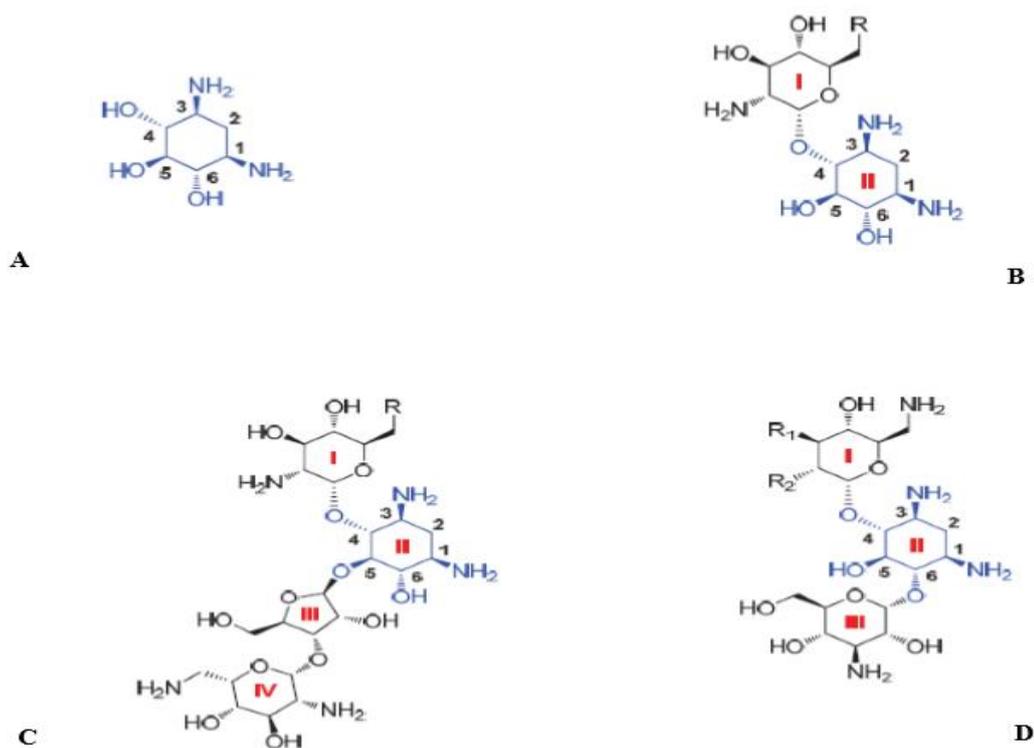


Figure 5 : Structure de quelques aminosides: le cycle central DOS est indiqué en bleu (**Poole, 2005**).

A : Desoxystreptamine (DOS) ; B : Paromamine (R = OH) ; Néamine (R = NH₂) ; C : Paromomycine (R = OH) ; Néomycine (R = NH₂) ; D : Kanamycine (R₁ = OH, R₂ = OH) ; Tobramycine (R₁ = H, R₂ = NH₂).

La synthèse bibliographique

L'action des aminosides se déroule en 3 étapes:

- La première étape est un passage passif qui permet la traversée de la membrane externe à travers les porines, puis la traversée du peptidoglycane. Les aminosides se concentrent alors au niveau de la membrane cytoplasmique (**Changeur et Cherruault, 2009**).
- La deuxième étape requiert la production d'énergie pour le transport des aminosides. Cette énergie est fournie par des métabolismes oxydatifs (**Bryskier, 1999**).
- Au cours de la troisième étape, la plus rapide, les aminosides se fixent sur le ribosome spécifiquement au site A de l'ARN (Acide Ribonucléique) ribosomal 16S qui compose le ribosome bactérien 30S et provoquent la fixation d'un ARN transfert incorrect sur l'ARN messager. La reconnaissance codon-anticodon est perturbée, ce qui induit la synthèse de protéines erronées (**Touati, 2013**).

2.3 Les quinolones/fluoroquinolones

Les quinolones sont des agents synthétiques à activité bactéricide qui inhibent des enzymes (Topoisomérase ou ADN gyrase) qui participent à l'enroulement des brins d'ADN. Ils sont actifs uniquement sur les germes à Gram négatif (**Delmee, 2004**).

Cette molécule a été développée pour donner l'acide nalidixique (**Sarkozy, 2001**). Ce dernier a été grandement utilisé, depuis pour le traitement des infections urinaires. De façon générale, les quinolones sont caractérisées par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale, une bonne pénétration tissulaire (**Larouche, 2001**). Quant aux fluoroquinolones, ils sont caractérisés par la présence d'un atome de fluor en position 6 et d'un cycle azoté, le plus souvent une pipérazine, en position 7 (**Courvalin et al., 2006**) (**Figure 6**).

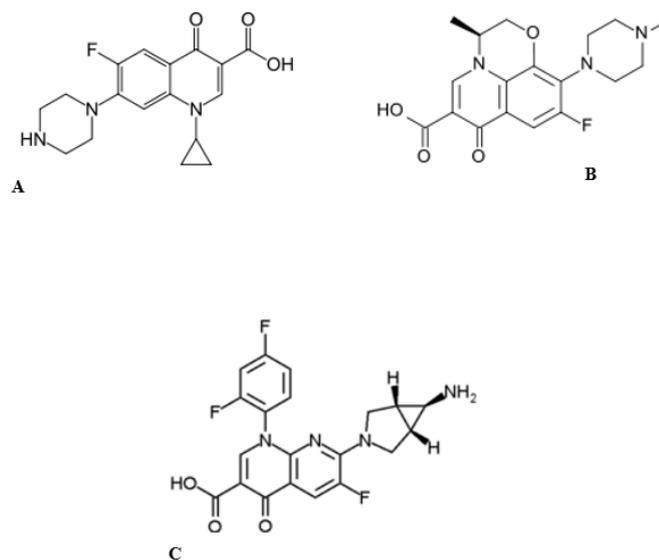


Figure 6 : Structure de quelques fluoroquinolones (Ball, 2000).

A : Ciprofloxacin ; B : Levofloxacin ; C : Trovafoxacin.

Les enzymes bactériennes ADN gyrase ou topoisomérase II et la topoisomérase IV sont les cibles principales des fluoroquinolones (Muylaert *et al.*, 2013). Les fluoroquinolones interagissent avec le complexe ADN-enzyme c'est-à-dire avec l'ADN gyrase liée à l'ADN bactérien ou avec la topoisomérase IV liée à l'ADN bactérien pour créer des changements de conformation qui aboutissent à l'inhibition de l'activité enzymatique. Le nouveau complexe fluoroquinolone enzyme-ADN bloque la progression de la fourche de réplication inhibant ainsi la synthèse normale de l'ADN (Hooper, 2000).

2.4 Rifampicine

La classe des rifamycines a été découverte en Italie en 1957. Le chef de file de la famille, la rifamycine B, est une molécule naturelle isolée de *Nocardia mediterranei*. La rifamycine B a été transformée à partir de la solution aqueuse en une molécule plus active, la rifamycine S, elle-même transformée en rifamycine SV. Cette dernière est un antibiotique très actif et plus soluble, mais non absorbable par voie orale. En 1965 était synthétisé un dérivé le 3-4-méthyl-pipérazinyliminométhyle administrable par voie orale, appelé rifampicine, qui est devenu le principal composant de la famille (Figure 7) (Taha *et al.*, 2006).

développement de la majorité des autres bactéries de la même espèce (**Qassimi, 2010**). Les bactéries sont dites multirésistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistance naturelle et acquise, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotique. Il y a deux types de la résistance:

3.1.1 Résistance naturelle

C'est la résistance de toutes les souches d'une même espèce bactérienne à un antibiotique donné. Elle correspond à l'existence d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance innés, héréditaires et transmissibles verticalement à la descendance. Par exemple : *Klebsiella pneumoniae* est naturellement résistante aux amino-pénicillines (exemple : l'amoxicilline) et aux carboxy-pénicillines (exemple : la ticarcilline) par sécrétion de pénicillinases (**Bonnet, 2012**).

3.1.2 Résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (**Yala et al., 2001**).

- **Résistance chromosomique:** La mutation chromosomique (20% de résistances), affectant le chromosome ; elle est rare, spontanée, stable, indépendante de l'antibiotique (spécifique); qui entraîne une modification à l'échelle moléculaire qui touche: soit une diminution de la perméabilité de la paroi ou de la membrane cellulaire perturbant ainsi le transport de l'antibiotique, soit une modification des cibles intracellulaires qui deviennent insensibles à l'action de l'antibiotique et soit à la modification de la synthèse d'enzymes naturelles, qui sont alors produites à forte concentration (**Ramdani et al., 2009 ; Talbert et al., 2015**).
- **Résistance extra-chromosomique :** La résistance peut provenir de l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides, bactériophages ou transposons. On parle alors de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation (**Mirabaurd, 2003**).

4 Mécanismes de résistance

4.1 Différentes mode de transferts horizontaux

4.1.1 Transformation

Il s'agit d'un mécanisme d'acquisition d'ADN libre par certaines espèces bactériennes capables au cours de leur cycle cellulaire de présenter un état physiologique (état de compétence) nécessaire à la fixation et l'absorption d'ADN par ces bactéries. La transformation nécessite la présence dans le milieu environnant d'ADN libre provenant d'une cellule lysée, cet ADN libéré est ensuite fixé et absorbé par une bactérie réceptrice en phase de compétence. Dans cette bactérie, l'ADN exogène subit une recombinaison génétique afin de s'intégrer de façon stable au génome et d'être transmis aux cellules filles (**Schwarz *et al.*, 2001**). La transformation joue un rôle limité dans le transfert de gènes de résistance car l'ADN libre doit d'une part présenter une importante similarité avec l'ADN de la cellule réceptrice et d'autre part l'ADN libre dans l'environnement est rapidement dégradé. De plus, les espèces bactériennes naturellement compétentes sont peu nombreuses (**Schwarz *et al.*, 2001**).

4.1.2 Transduction

La transduction est un processus qui consiste en un transfert de matériel génétique (ADN bactérien) d'une bactérie donneuse à une bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un bactériophage. Le bactériophage infecte une première bactérie (bactérie donneuse) et y injecte son ADN viral à travers la paroi de la cellule. De nouveaux phages s'y développent, et certains intègrent une partie du génome bactérien dans leur capsid de phage (la taille du fragment d'ADN bactérien doit être proche de celle de l'ADN phagique). Lors de la libération des phages, ceux-ci vont infecter d'autres bactéries. Les phages comportant une partie d'ADN bactérien vont l'injecter dans une nouvelle bactérie (bactérie réceptrice) (**Davison, 1999**).

4.1.3 Conjugaison

La conjugaison est une technique utilisée par les bactéries pour échanger des informations génétiques. Elle consiste en une transmission d'éléments génétiques d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. La conjugaison nécessite un contact étroit entre la bactérie donatrice et la bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un pont cytoplasmique permettant un transfert unidirectionnel. La bactérie réceptrice ayant reçu le plasmide est appelée transconjugant. La sélection des transconjugants s'effectue en présence de deux

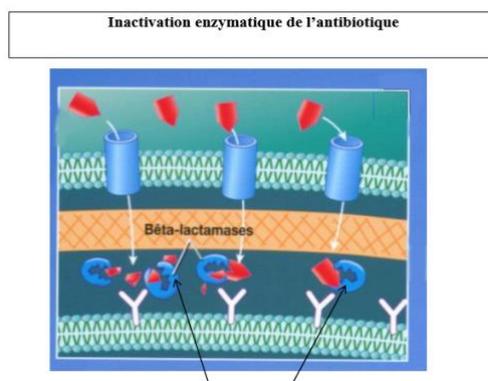
La synthèse bibliographique

antibiotiques: un correspond à l'une des résistances transférées de la souche donatrice et l'autre à la résistance non transférable de la souche réceptrice. De nombreux éléments génétiques, comme les plasmides et les transposons qui représentent les différents supports mobiles des gènes de résistance aux antibiotiques sont transférables par conjugaison (Davison, 1999).

4.2 Mécanismes de résistances des entérobactéries

4.2.1 Résistance aux β -lactamines

La production d'enzyme inactivatrice (**Figure 8**) est le principal mécanisme de résistance des entérobactéries aux β -lactamines. Le processus repose sur un résidu sérine actif chez les enzymes les plus fréquentes ou sur un ion métallique Zn^{2+} . Dans les deux cas, l'inactivation des β -lactamines est due à l'ouverture du cycle β -lactame au niveau de la liaison amide, selon une réaction d'hydrolyse suite à l'activation d'une molécule d'eau (**Bonnet, 2012**).



Bêta-lactamines / Bêta-lactamases

Figure 8 : Inactivation enzymatique de l'antibiotique.

4.2.2 Résistance aux aminosides

La résistance des entérobactéries à cette famille d'antibiotique est surtout due à la production d'enzymes inactivatrices : phosphotransférases (APH), nucléotidyltransférases (ANT) et acétylstranférases (AAC) qui catalysent la phosphorylation des groupements hydroxyles (OH), la nucléotidylation des groupements hydroxyle, et l'acétylation des groupements aminés (NH₂), respectivement. Ces enzymes sont majoritairement codées par

La synthèse bibliographique

des gènes portés sur des plasmides. On peut distinguer 9 phénotypes de résistance principaux (**Tableau 04**) (**Fauchere, 1997**).

Tableau 4 : Phénotypes de résistance des entérobactéries aux aminosides (**Fauchere, 1997**).

Phénotypes	Kanamycine	Tobramycine	Amikacine	Gentamicine	Nétilmicine
Sauvage	S	S	S	S	S
APH (3') (Phosphotransférases)	S	S	S	S	S
AAC (3)-I	S	S	S	R S/I/	S
AAC (3)-II	R S/I/	R	S	R	I/R
AAC (6')	R S/I/	I/R	/R S/I	S	I/R
ANT (2'')	R S/I/	I/R	S	I/R	S
AAC (2')	S	S/I/R	S	R S/I/	R S/I/
APH (3') + AAC (3)I	R	S	S	R S/I/	S
IAAC (6') + AAC (3)I	I/R	I/R	/R S/I	R S/I/	I/R

4.2.3 Résistances aux quinolones

Pendant plus de 30 ans, les mécanismes de résistance aux quinolones connus avaient un support chromosomique. Depuis 1998, des déterminants d'origine plasmidique ont été découverts (**Nordmann *et al*, 2007**). Les quinolones ont pour cible les topoisomérases de type

La synthèse bibliographique

II, ADN gyrase et topoisomérase IV. Les deux grands mécanismes responsables de la résistance aux quinolones sont l'altération de la cible avec des mutations dans les gènes des topoisomérases et l'efflux. Ainsi, La résistance aux quinolones peut être facilitée par l'acquisition des gènes. Par exemple, les gènes *qnr*, codant des protéines qui protègent les topoisomérases de l'action des quinolones, peuvent compléter la résistance. Cependant plusieurs types de gènes *qnr* ont été décrits (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* et *qnrS*) avec différents variants. Le niveau de résistance aux quinolones peut aussi être augmenté par l'acquisition du gène *aac(6')-Ib-cr* codant pour un variant d'une enzyme inactivatrice des aminosides qui acétyle spécifiquement la ciprofloxacine (**Rice, 2012**).

L'utilisation abusive des quinolones, a conduit à l'apparition d'une résistance augmentée à ces antibiotiques.

Chez les bactéries à Gram négatif, les mécanismes de résistance acquise par :

- mutations chromosomiques, induisent l'imperméabilité de la paroi ;
- support plasmidique, induit la protection des topoisomérases de liaison à fluoroquinolone (ADN bactérien) et l'acétylation des quinolones donc l'inactivation enzymatique (*aac(6')-Ibcr* enzyme) (**Dentan, 2015**).

Matériel et méthodes

1 Lieu de stage

La réalisation des essais de l'isolement et l'identification des bactéries ont été effectuées au niveau de l'unité de bactériologie de l'établissement public hospitalier (EPH) El khroub (Mohamed Boudiaf) Constantine.

2 Durée et type d'étude

Ce travail renferme :

- Une étude rétrospective effectuée sur une période de un an et trois mois (allant de Janvier 2021 jusqu'à Mars 2022).
- Une étude prospective réalisée sur une période de deux mois (allant d'Avril jusqu'à Juin 2022).

Cette étude a porté sur les résultats d'identification et d'antibiogramme des souches bactériennes de la famille des *Enterobacteriaceae* isolées chez les patients au niveau de laboratoire d'EPH el khroub Mohamed Boudiaf.

Ce travail, par son caractère rétrospectif, a été limité par l'absence de certaines informations dans les registres du laboratoire tel que l'âge, les symptômes cliniques et l'état physiologique des patients.

3 Population étudiée

Cette étude a concerné les patients venus avec une demande d'examens bactériologiques au laboratoire d'EPH chez qui des prélèvements ont été effectués en vue de l'isolement et l'identification des souches bactériennes de la famille des *Enterobacteriaceae* pendant la période de cette étude.

4 Critère d'inclusion et d'exclusion

4.1 Critère d'inclusion

- Les souches bactériennes qui appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*.
- Les résultats de l'antibiogramme des entérobactéries.
- Les malades hospitalisés et non hospitalisés.

4.2 Critères d'exclusion

- Les souches bactériennes qui n'appartiennent pas à la famille des *Enterobacteriaceae*.
- L'âge des patients

5 Considérations éthiques

L'anonymat et la confidentialité des informations des patients ont été respectés lors du recueil des données.

6 Méthodologie de laboratoire

6.1 Etude des produits pathologiques

Les prélèvements ont été reçus au laboratoire d'EPH en fonction des différents sites d'infections et concernaient l'urine, le pus, de prélèvements vaginaux, liquide de ponction et l'hémoculture.

Les différents prélèvements ont été accompagnés d'une fiche de renseignements appropriée.

6.1.1 Cas des ECBU

- **Examen macroscopique**

Aspect : les urines étaient claire, légèrement trouble, trouble, hématurique ou contenaient un sédiment ou des filaments.

La présence de particules : filament, dépôt etc., était à signaler.

- **Examen microscopique**

- **Etat frais**

Après une homogénéisation de l'échantillon de l'urine, une goutte est déposée à l'aide d'une pipette Pasteur au centre d'une lame. Puis, une lamelle est placée au-dessus de la goutte. L'observation est faite au microscope à l'objectif $\times 40$ (**figure 9**).

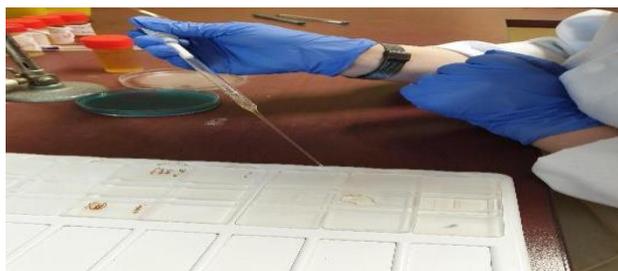


Figure 9 : Dépôt de la goutte d'urine sur la lame.

Matériel et méthodes

➤ Examen qualitatif

Description des différents éléments cellulaires (les polynucléaires, les hématies, les cellules épithéliales, les cristaux, levures et présence ou absence de bactéries).

• Culture

Milieu utilisé : GN (gélose nutritive). (**Annexe 01**).

Après homogénéisation ; ensemencer une boîte de pétri avec 10 μ L d'urines totales et incubé à 37 °C + 1(**figure 10**).



Figure 10 : Ensemencement de la goutte d'urine sur le milieu gélose nutritive.

6.1.2 Cas des hémocultures

C'est la culture du sang devant tout syndrome infectieux dont on suspecte une septicémie, ou une bactériémie pour la mise en évidence de l'agent bactérien causal.

Le prélèvement sanguin est réalisé durant les pics fibrilles, 10ml de sang sont prélevés chez l'adulte et injectés dans des flacons anaérobies et aérobie respectivement (2-5ml chez l'adulte) en dehors de tout traitement antibiotique ; si le malade est sous traitement antibiotique, il doit faire une fenêtre thérapeutique de 24H- 72H.

❖ Analyse et traitement des échantillons

1er jour : Incuber les flacons du sang reçus le jour même à 37°C pendant 48h.

Après 48h : Faire un repiquage : quelques gouttes sont ensemencées (4 quadrants) sur les boîtes GSC (gélose au sang cuit) et BCP (BromoCrésol Pourpre) (**Annexe 01**). Incuber à 37°C pendant 24h.

Après l'incubation, lecture des boîtes

- Si la culture est positive : identifier le germe + Antibiogramme.
- Si la culture est négative : incuber les flacons pendant 8j.

Après les 8 jours d'incubation : observer les flacons ré- incubés

- Si le résultat est positif : le germe sera identifié + antibiogramme.
- Si le résultat est négatif : on conclura avec une absence de germes.

6.1.3 Cas des Pus et liquides de ponction

Les pus sont des suppurations qu'elles soient superficielles (escarre, ulcère, furoncle, etc...) ou profondes (ostéomyélite, spondylodiscite, d'origine digestive, etc.). À côté de ces suppurations primitive, on distingue aussi les suppurations secondaires poste opératoires ou post-traumatiques.

Les liquides de ponction reçus au laboratoire sont : liquide pleural, liquide d'ascite, liquide de ponction articulaire ou synovial, ou kystes. Le prélèvement doit être réalisé si possible avant toute antibiothérapie, dans des conditions d'asepsie rigoureuse, après désinfection soigneuse de la peau pour éviter toute contamination par la flore commensale cutanéomuqueuse au niveau du site de ponction, il peut se faire également en per opératoire. La quantité doit être suffisante (2 à 5 ml).

- **Examen macroscopique**

On note la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus. Le pus pouvait être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux. La couleur varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés. Lorsqu'un prélèvement était assez abondant, l'examen macroscopique (odeur, couleur de pus) peut fournir des renseignements intéressants :

- l'odeur nauséabonde des pus à anaérobies,
- l'aspect granuleux, mal lié, des pus à streptocoques
- les pus crémeux à Staphylocoques ou à Pneumocoques sont des éléments d'orientation dont il faut tenir compte.

- **Examen microscopique**

- **Coloration bleu de méthylène**

Cet examen permet de :

- ✓ Distinguer les cellules d'accompagnement : soit des polynucléaires neutrophiles ou des lymphocytes (étude qualitative et quantitative).
- ✓ Constater l'état des cellules (intactes ou altérées).
- ✓ Observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles.

Matériel et méthodes

L'examen cytologique consistait à apprécier le degré d'altération et le nombre des polynucléaires neutrophiles et, éventuellement, la présence d'autres cellules.

- **Coloration de Gram**

Au microscope optique, grossissement X 100. On notait la présence ou l'absence de bactéries (une ou plusieurs espèces),

- ❖ leur morphologie,
- ❖ leur position intra ou extracellulaire,
- ❖ en cas de pus poly microbien, l'espèce dominantes, et leur abondance.

- **Culture**

Des isollements sur différents milieux ont été réalisés en tenant compte de la fiche de renseignements cliniques et des examens macro et microscopiques sur :

- ❖ Milieu ordinaire ou Gélose au Sang Cuit incubée sous CO₂.
- ❖ GSG (Géloses au sang frais) (**Annexe 01**).
- ❖ Géloses sélectives : BCP.
- ❖ Gélose Chapman (**Annexe 01**).
- ❖ Gélose nutritive.

L'identification a été ensuite effectuée sur les différents types de germes isolés et purifiés.

6.1.4 Cas de Prélèvement Vaginal

- **Examen macroscopique**

La vulve pouvait être normale ou inflammatoire présentant des lésions. La muqueuse vaginale normale était de couleur rose sans douleur au contact.

La muqueuse inflammatoire était de couleur rouge, pouvait être douloureuse au contact et présentant des lésions

L'endocol était normal ou présentant des lésions, saignant au contact.

Les sécrétions :

Abondance, les sécrétions pouvaient être rares, peu abondantes, abondantes, très abondantes.

Matériel et méthodes

Consistance, les sécrétions pouvaient être épaisses, adhérentes aux parois vaginales, caillébotées, liquides, glaireuses, bulleuses, purulentes.

La couleur de la leucorrhée, les sécrétions pouvaient être blanchâtres, jaunâtres, verdâtres, grisâtres etc.

• Examen microscopique

• Etat frais

Une goutte de suspension des sécrétions vaginales était placée entre lame et lamelle et observée au microscope à l'objectif 40. On recherchait les éléments suivants :

- Les cellules épithéliales : pour apprécier l'exfoliation de l'épithélium.
- Les éléments parasitaires.
- La flore bactérienne : avec son abondance, sa morphologie (bacilles, cocci) et la mobilité. La flore normale était constituée d'une prédominance de bacilles de Doderlein qui sont des lactobacillus. Une flore déséquilibrée était constituée d'une minorité ou d'une absence de bacilles de Doderlein. On distinguait ainsi quatre types de flore :
 - Type I, présence exclusive de bacilles de Doderlein (flore normale)
 - Type II, prédominance de bacilles de Doderlein (flore normale)
 - Type III, prédominance d'une flore autre que la flore de Doderlein (flore déséquilibrée)
 - Type IV, absence de bacilles de Doderlein (flore déséquilibrée).

Une coloration au Bleu de Méthylène était effectuée : le pourcentage PN, de lymphocytes et présence ou absence de bactéries.

-Si présence de bactéries, faire un autre frottis qui sera coloré au Gram.

• Culture

Le prélèvement est mis en culture pendant 24 heures, c'est l'examen micro-bactériologique. Cette étape consiste à identifier les germes observés lors de l'examen microscopique, l'ensemencement est fait selon différents milieux de cultures :

Ont été ensemencés sur une GSC et GSF. L'incubation se faisait sous atmosphère CO₂ à 37 °C pendant 24 – 48 h.

Les sécrétions vaginales ont été ensemencées aussi sur le milieu gélose Chapman. L'incubation se faisait à 37 °C pendant 24 h. plus la gélose nutritive et BCP.

6.1.5 Cas de LCR

• Examen macroscopique

Après homogénéisation par une légère agitation, on note le degré de limpidité du liquide et sa coloration.

- Un liquide clair (appelé souvent eau de roche) correspond soit à un liquide normal, soit à un liquide pathologique: les liquides clairs peuvent se rencontrer dans les méningites virales, tuberculeuses, mycosiques ou à leptospires.
- Un liquide trouble ou franchement purulent (eau de riz) correspond à une réaction leucocytaire marquée, traduisant généralement une méningite bactérienne ou, plus rarement, une réaction méningée inflammatoire amicrobienne.
- En cas de piqûre d'un vaisseau au cours de la ponction, on note une coloration rouge du liquide, plus marquée dans le premier tube que dans le dernier, avec souvent la formation d'un petit caillot.
- Les liquides sanglants ou jaunes (appelés xanthochromiques) dans les trois tubes évoquent plutôt une hémorragie méningée, sans toutefois éliminer systématiquement une méningite.

• Examen microscopique

✓ **Étude quantitative:** numération des leucocytes / mm^3 en cellules de Nageotte.

C'est le dénombrement des éléments cellulaires. Le dénombrement se fait par champ, dont la moyenne de 3 ou 4 bandes est quantifiée pour avoir le nombre des éléments présents dans l'échantillon après avoir appliqué la formule suivante : $N = n \times 1 / 0.8 \text{ mm}^3$, dont N c'est : le nombre total des éléments présents dans l'échantillon et n : la moyenne du nombre des éléments comptés dans 3 à 4 bandes et 0.8 mm^3 volume d'une bande de la cellule de nageotte et 1 mm^3 représente le volume dans lequel on doit trouver le nombre des éléments.

NB : La cellule de nageotte est une lame très épaisse en verre (**figure 11**) qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution tel que l'urine. Le quadrillage est constitué de larges et longues colonnes divisées en plusieurs champs.

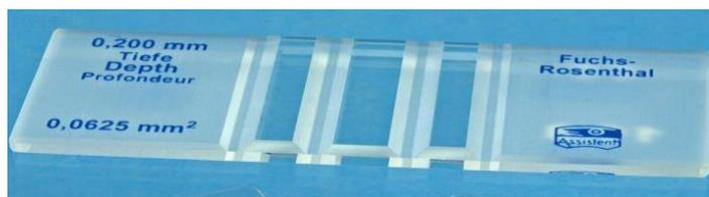


Figure 11 : la cellule de nageotte.

Matériel et méthodes

- ✓ **Étude qualitative** : après centrifugation du liquide faire un frottis, et colorer au Bleu de Méthylène: le pourcentage PN, de lymphocytes et présence ou absence de bactéries.

-Si présence de bactéries, faire un autre frottis qui sera coloré au Gram.

• Culture

- Bactéries aérobies: sur la Gélose Chocolat, puis incubé à 37° en aérobiose sous CO₂.
- Et sur bouillon d'enrichissement BCC qui sera incubé aussi 24 heures à 37 c°.

Lecture des boîtes

- Si la culture est négative; ré- incuber les boîtes.
- Si la culture est positive; identifier le germe + antibiogramme.

L'observation du bouillon d'enrichissement se fait tous les jours, en cas de trouble, faire un repiquage sur milieu Chocolat et incubé pendant 48 heures. Si la culture est positive après enrichissement : identification + antibiogramme.

6.2 Identification bactérienne

Le diagnostic bactériologique est réalisé en plusieurs étapes :

6.2.1 Appréciation macroscopique

Elle permet d'observer l'aspect, l'odeur, la couleur, la consistance des colonies et le virage des milieux de cultures sélectives utilisés.

6.2.2 Examen microscopique

- **Observation à l'état frais:**

C'est une observation entre lame et lamelle à l'objectif x40, elle permet d'observer la forme, la mobilité et le type de regroupement cellulaire.

- **Coloration simple au bleu de méthylène**

Elle permet d'observer les bactéries (forme, taille, mode de regroupement) et la détection de certaines cellules sanguines (polynucléaires neutrophiles, lymphocytes).

- **Coloration de Gram**

- **Principe**

La réponse différente des bactéries vis-à-vis de la coloration de Gram s'explique par une différence d'accessibilité de leurs cellules, déterminées par la structure particulière de la paroi cellulaire de chacun des deux groupes de bactéries (Gram positif et Gram négatif).

Matériel et méthodes

○ **Technique :**

- ✓ Préparer un frottis sur une lame propre, le fixer à la chaleur et le recouvrir avec un colorant de violet de gentiane (**Annexe 02**), pendant 1 minute.
- ✓ Fixer la première coloration par le Lugol (**Annexe 02**), laisser 1 minute.
- ✓ Rejeter le Lugol, rincé à l'eau.
- ✓ Décolorer à l'alcool jusqu'à ce que la dernière goutte devienne claire et laisser pendant 30 secondes.
- ✓ Rincer à l'eau et recouvrir la lame avec de la Fushine (**Annexe 02**), laisser agir une minute.
- ✓ Rejeter la Fushine, laver abondamment, égoutter, puis sécher à la chaleur.

○ **Lecture :**

Lire à l'objectif x100 à l'aide de l'huile à immersion. On peut observer deux types de cellules: les bactéries à Gram négatif sont de couleur rose et les bactéries à Gram positif sont colorées en violet.

* Les réactifs utilisés sont présentés dans l'**Annexe 02**.

6.2.3 Identification biochimique

Au laboratoire de (EPH) El khroub (Mohamed Boudiaf) Constantine, l'identification s'est basée sur les caractères morphologiques, culturels, biochimiques.

L'identification des caractères biochimiques est effectuée à l'aide de galeries biochimiques classiques ou bien API 20 E plus des tests complémentaires (test d'oxydase et test de catalase).

❖ **Identification par les Galeries biochimiques classiques**

Les galeries représentent un système standardisé pour l'identification des entérobactéries, ainsi que d'autres bacilles à Gram négatif à oxydase négative.

- **Technique:** Après le développement de la bactérie en colonies isolées sur milieu gélosé, préparer la suspension bactérienne:
 - Introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile, avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
 - Ensemencer sur les milieux TSI, Citrate de Simmons, Mannitol, Urée-indole, Clark et Lubs.
 - Incuber pendant 24 heures sur 37 c°.

Matériel et méthodes

- **Lecture** : Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.
- ❖ **Galerie API 20^E** (Appareils et Procédés d'Identification pour les entérobactéries)

- **Principe**

La galerie Api 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les micro tubes 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 (**Figure 12**). La lecture de ces réactifs se fait à l'aide du tableau de lecture et d'identification.



Figure 12 : Image d'identification d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* avec la galerie API 20E.

- ❖ **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 toutes eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz comme le Cl₂, CO₂ etc.) dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire le code sur la languette latérale de la boîte. Ne pas inscrire de code sur le couvercle.
- Sortir la galerie de la boîte et la placer dans la boîte d'incubation. Préparation de l'inoculum.
- Utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile sans additif.
- A l'aide d'une anse, prélever une seule colonie bien isolée sur un milieu gélosé (culture jeune de 18 – 24h d'incubation)
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

Matériel et méthodes

○ **Inoculation de la galerie**

1. Remplir tubes et cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement

2. Remplir uniquement les tubes et non les cupules des autres tests.

3. Créer une anaérobiose dans les tests ; ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine.

4. Refermer la boîte et la placer à l'étuve à 35-37 °C pendant 18 à 24 heures.

○ **Lecture**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture présent dans la notice ou sur le site de biomérieux.

- ❖ Si 3 tests ou plus 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 de James. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Test à réaliser en dernier à cause de la libération de gaz pouvant altérer l'interprétation des autres tests. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.
- Test VP : Ajouter 1 goutte des réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.
- ❖ Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3 :
 - Ré-incuber la galerie 24 h (± 2) de plus sans rajouter les réactifs.
 - Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.
 - Pour compléter l'identification, il peut être utile de réaliser des tests complémentaires.

○ **Interprétation des résultats**

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (**annexe 03**). La lecture de ces réactions

Matériel et méthodes

se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique (**annexe 4**).

Tests complémentaires

✓ Test d'oxydase

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21ème test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

1) Principe

Il est fondé sur la production bactérienne de l'enzyme « cytochrome oxydase » (plus précisément « la phénylène-diamine-oxydase ») qui entre dans les chaînes respiratoires aérobies et comporte le cytochrome C.

2) Technique

Cette recherche s'effectue sur un papier filtre d'oxydase prête à l'emploi ; imprégné de Ndiméthyle paraphénylène diamine oxalate.

A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie de la bactérie à identifier est écrasée sur le papier.

3) Lecture

La présence d'un cytochrome oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé. A l'inverse, si la couleur du papier ne change pas, la souche est donc oxydase négative.

6.3 Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »

La résistance des souches aux antibiotiques est testée par la méthode de diffusion en milieu gélose « Muller Hinton (MH) » (**Annexe 01**) ; c'est une technique rapide basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration de l'antibiotique obtenu après sa diffusion à partir du disque. La croissance bactérienne s'arrête lorsque les bactéries sont en contact avec la concentration minimale d'inhibition autour du disque d'antibiotique.

➤ Antibiotiques

Dans le but d'évaluer in vitro l'Antibiorésistance des entérobactéries par la méthode de diffusion en milieu gélosé, des disques d'antibiotiques (Bio-Rad) ont été utilisés. Les disques

Matériel et méthodes

Bio-Rad sont de 6,5 mm fabriqués à partir de papier absorbant de qualité supérieure imprégnés d'agents antimicrobiens à des concentrations précises. Les disques sont clairement identifiés par un symbole, comportant 1 à 3 lettres, imprimé de chaque côté du disque (**Tableau 5**).

Tableau 5 : liste des antibiotiques utilisés.

Familles d'antibiotiques	antibiotiques	symboles
Beta lactamines	Ampicilline	AMP
	Amoxicilline	AMX
	Ticarcilline	TIC
	Pipéracilline	PRL
	Amoxicilline + acide clavulanique	AMC
Céphalosporines	Céfazoline	CZ
	Céfalotine	CF
	Céfotaxime	CTX
	Céftriaxone	CRO
	Cefoxitine	FOX
	Céfuroxime	
	Céftazidime	CAZ
Aminosides	Amikacine	AK
	Gentamicine	CN
	Tobramycine	NM
	kanamicine	K
Quinolones	Ciprofloxacine	CIP
Autres	Colistine	CT
	Fosfomycine	FOS
	Sulfamethoxazole+Trimethoprime	SXT

Matériel et méthodes

○ Principe

C'est l'étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu gélosé, l'antibiogramme par diffusion permet de déterminer la sensibilité des entérobactéries vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques. Les disques d'antibiotiques à tester sont disposés à la surface d'une gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée avec une culture pure de la souche à étudier.

○ Technique

A partir d'une culture pure, Prélever quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, à l'aide d'une pipette Pasteur et les transférer dans l'eau physiologique stérile (2,5ml). Puis homogénéiser la suspension bactérienne. Par la suite, l'inoculum est ajusté à l'étalon 0,5 Mac Ferland (10^8 UFC/ml).

L'écouvillon est trempé dans l'inoculum puis est réparti sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées, l'opération est répétée 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Après le séchage, les disques sont déposés sur la gélose à 30 mm les uns des autres, les boîtes sont ensuite incubées à une température de 37°C pendant 24h.

○ Lecture

L'identification des bactéries isolées s'effectue grâce aux résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme. La lecture de l'antibiogramme se fait par la mesure des diamètres d'inhibition à l'aide du pied à coulisse ou par une règle graduée.

Les résultats sont comparés aux valeurs critiques standards (**Annexe 05**), pour classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible (S), Intermédiaire (I), Résistante (R) (**Annexe 06**).

7 Saisie et analyse des données

La saisie et l'analyse des données ont été faites par les logiciels : Microsoft Excel version 2010.

Résultats et discussion

1 Identification bactérienne

Au cours de l'étude prospective, 11 souches d'entérobactéries ont été identifiées au laboratoire de microbiologie d'EPH EL khroub sur la base des tests d'identifications morphologiques et biochimiques. Trois souches d'entérobactéries ont pu être isolées et qui sont : *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* et *Enterobacter cloacae*.

1.1 Aspect macroscopique

Aspect des colonies : A partir de différents prélèvements, l'isolement des souches sur les milieux ; chocolat, gélose au sang frais, Chapman, gélose nutritive (**Figure 13**) et BCP (**Figure 14**) a permis d'examiner la morphologie des colonies. Certaines colonies se présentent sous une forme granulaire, d'autres ont un aspect muqueux. Leur diamètre est compris entre 1 et 2,5 mm, exception faite pour *E. coli* qui donne parfois des colonies naines.



Figure 13 : Aspect macroscopique des colonies sur gélose nutritive.



Figure 14 : Aspect macroscopique des colonies sur milieu BCP.

1.2 Aspect microscopique

- **Examen à l'état frais**

L'observation des cellules à l'état frais indique que certaines souches sont mobiles et d'autres immobiles (**Figure 15**).

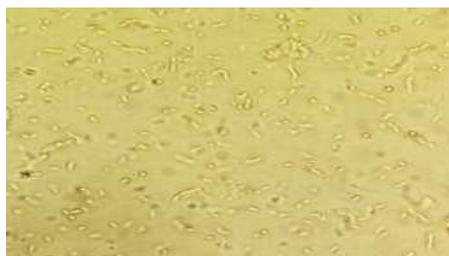


Figure 15 : Observation microscopique des bacilles à l'état frais

- **Examen après coloration de Gram**

L'observation des souches étudiées après coloration de Gram au « G x 100 », a révélé que ces dernières sont à Gram négatif (**Figure 16**) et ont une forme en bacilles ou coccobacilles. Elles peuvent être isolées, en paires ou regroupées en amas.

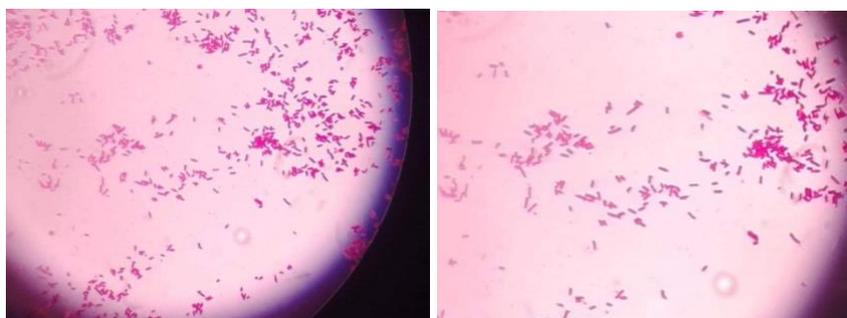


Figure 16 : Observation microscopique après coloration de Gram.

1.3 Identification biochimique des souches bactériennes

Après l'incubation, la détermination de la positivité et la négativité de chaque test consiste en une lecture ; soit directe (sans ajouter aucun réactif) soit indirecte (en ajoutant des réactifs spécifiques).

Tableau 6 : Caractères biochimiques des souches d'entérobactéries isolées.

	Glucose	Lactose	Citrate	Urée	Indole	Gaz	Mob	Mannitol	VP
<i>E.cloacae</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>Klebsiella sp.</i>	+	+	+	+	+/-	+	-	+	+
<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	+	+	v	-

+: constamment positif, - : constamment négatif, V: variable.



Figure 17 : Caractères biochimiques de l'espèce *Enterobacter cloacae* par la galerie biochimique classique.

2 Détermination du profil d'antibiorésistance

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton.

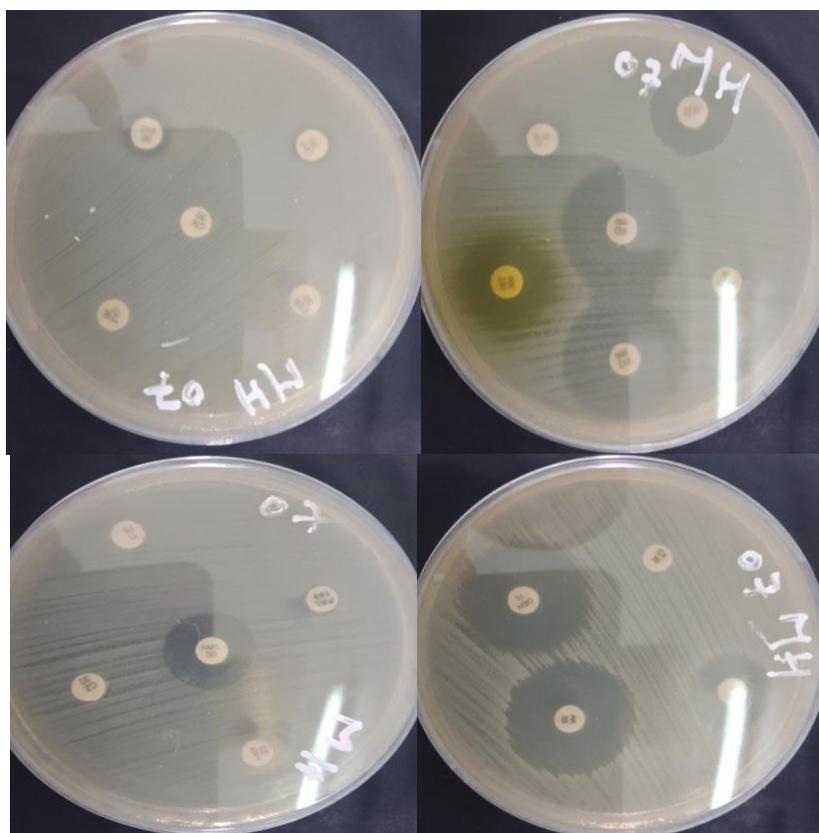


Figure 18 : Antibiogramme d'*Enterobacter cloacae*.

Résultats et discussion

Les résultats des antibiogrammes effectués sur les 3 souches bactériennes isolées sont illustrés dans le tableau07 :

Tableau 07: Profil de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries.

Molécules d'ATBs testées	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>
	N=6	N=3	N=2
	R%	R%	R%
AMX	5(83.33%)	3(100%)	2(100%)
AMC	/	/	R.N
Ti	5(83.33%)	R.N	2(100%)
PRL	2(33.33%)	3(100%)	2(100%)
CZ	1(16.66%)	3(100%)	2(100%)
CX	/	/	2(100%)
CTX	/	1(33.33%)	2(100%)
CAZ	/	2(66.66%)	R.N
FO	2(33.33%)	/	R.N
GEN	/	/	1(50%)
K	1(16.66%)	3(100%)	1(50%)
Tri	2(33.33%)	3(100%)	2(100%)
Céfuroxime	/	/	1(50%)
Cip	/	/	1(50%)
CTR	/	3(100%)	2(100%)
Céfipime	/	2(66.66%)	2(100%)
Tobramycine	/	/	1(50%)

R.N : Résistance Naturelle, N : nombre de souche, / : antibiotique non testé.

3 Répartition des Entérobactéries selon différents facteurs

3.1 Répartition des infections à entérobactéries selon les services

Durant la période de l'étude rétrospective et prospective, 143 cas d'infections à entérobactéries ont été recensés au sein des neufs services d'EPH el khroub.

Les statistiques montrent que les malades externes sont le plus touché par rapport aux autres (78 patients avec un pourcentage de 55%), suivie par les services de la médecine femme et homme (20 patients avec un pourcentage de 14%), ensuite les services de pédiatrie, l'urgence et la médecine interne (6 patients avec un pourcentage de 4%), suivie par le service de chirurgie homme (4 patients avec un pourcentage de 3%), puis le service de la chirurgie générale (2 patients avec un pourcentage de 1%). Enfin en dernier position le service de la chirurgie femme (1 patiente avec un pourcentage de 1%) (**Figure 19**).

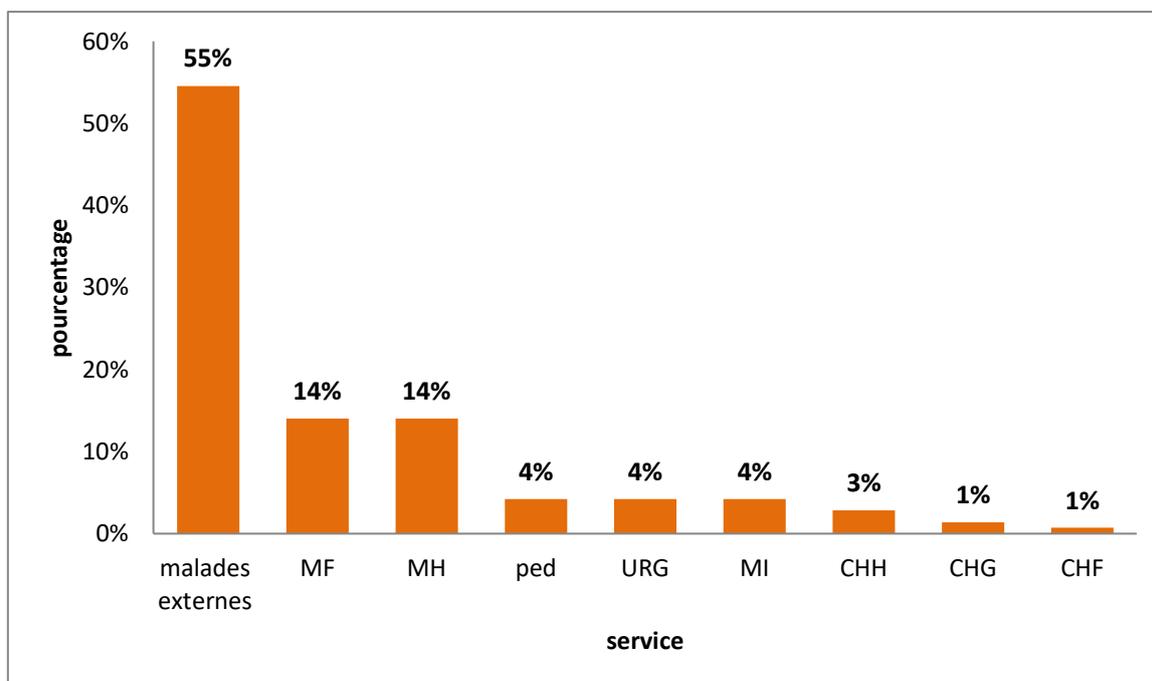


Figure 19 : Répartition des infections à entérobactéries selon les services.

MF : médecine femme, MH : médecine homme, Ped : pédiatrie, URG : urgence, MI : médecine interne, CHH : chirurgie homme, CHG : chirurgie générale, CHF : chirurgie femme.

Les résultats de cette étude diffèrent de ceux obtenus dans une étude faite en Algérie sur la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE), et qui a rapporté un taux de (27%) et (20%) dans les services de réanimation

et de médecine interne, suivi du service de gynécologie et de pédiatrie avec un taux de (7%) et (3%) respectivement (**Lagha, 2015**).

3.2 Répartition des infections à entérobactéries selon le sexe

A partir de 143 prélèvements positifs, nous avons noté une prédominance du sexe féminin avec un pourcentage de (60%) contre celui du sexe masculin (40 %), avec une sex-ratio (F/H) =1.59 (**figure 20**).

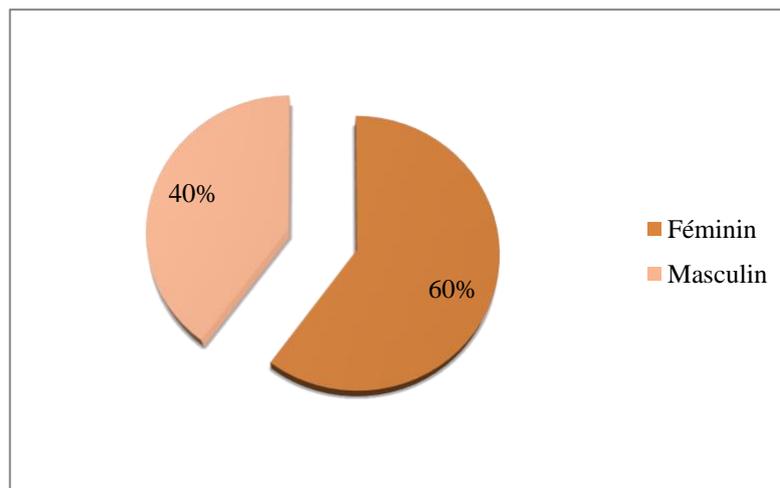


Figure 20 : Répartition des cas positifs d'infections à entérobactéries selon le sexe.

Les résultats de cette étude concordent avec ceux de **Benrabe et Mechri (2020)** qui ont trouvé dans leur étude une prédominance des infections à entérobactéries chez les femmes avec un pourcentage de (65%) par rapport aux hommes (35%).

D'autres part, ces résultats diffèrent de ceux obtenus dans une autre étude faite en Algérie sur la bactériologie des entérobactéries isolées au niveau du service de réanimation de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC) qui rapportée une prédominance de la population masculine avec une fréquence de (55,14%) (102/185) par rapport à la population féminine qui ne représentait que (44,86%) (83/185) (**Bouzeraa et Berhil, 2018**).

D'après les résultats obtenus, le sexe féminin est plus exposé aux infections à entérobactéries que le sexe masculin. Cette prédominance peut être expliquée par :

- L'anatomie de l'appareil urinaire féminine qui peut favoriser des infections urinaires due aux entérobactéries.

3.3 Répartition des infections à entérobactéries selon la nature des prélèvements

Les résultats démontrent une prédominance des entérobactéries dans les prélèvements urinaires (50%). Ils sont suivis par les prélèvements de pus (41%), ensuite les prélèvements des hémocultures avec un pourcentage de (2%), puis le liquide pleural, lait maternel et prélèvement vaginal (1%). Les résultats les moins importants sont constatés avec les prélèvements du liquide digestif, écoulement mammaire, liquide d'ascite et LCR. (**Figure 21**).

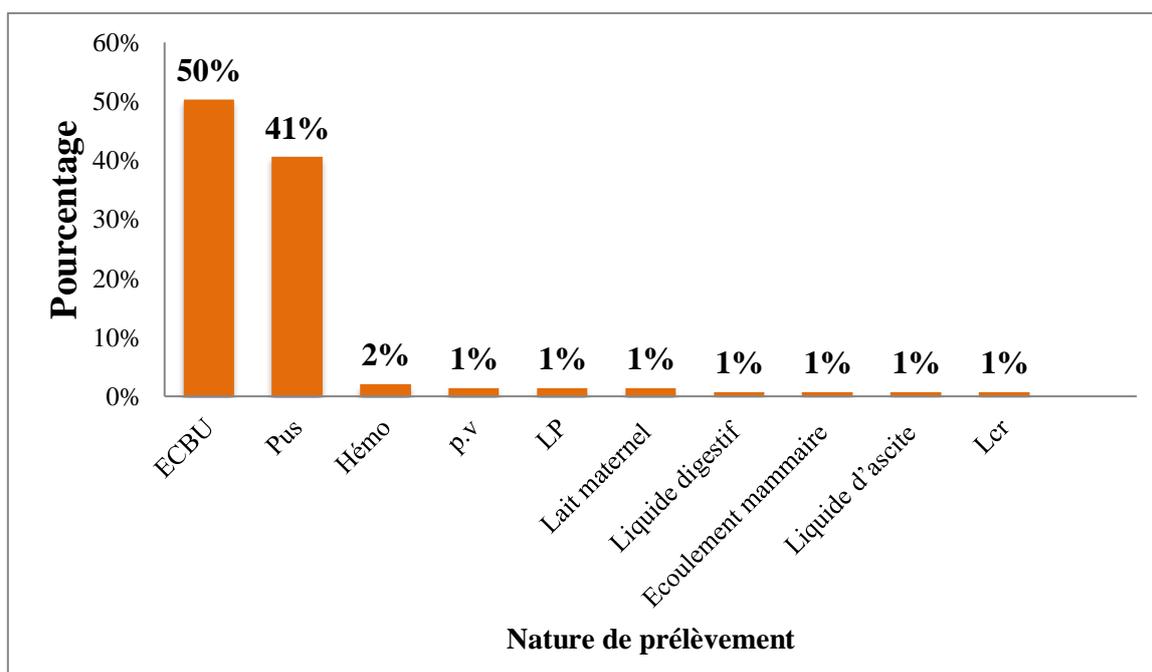


Figure 21 : Répartition des entérobactéries selon la nature de prélèvements.

Les résultats de cette présente étude sont en accord avec les travaux de Bouzeraa et Berrhil (2018) sur la bactériologie des entérobactéries isolées au niveau du service de réanimation de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC), qui ont trouvés une prédominance des entérobactéries dans les prélèvements urinaires (30,1 %).

Au Mali, au cours d'une étude sur l'antibio-résistance des entérobactéries isolées à Bamako, la majorité des souches isolées provenait des prélèvements urinaires avec (69%) soit 442 souches bactériennes sur un total de 639 souches (Aboubaker, 2020).

3.4 Répartition des entérobactéries selon l'espèce bactérienne

La distribution totale des espèces isolées, montre qu'*E. coli* était l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée avec (38%) de l'ensemble des espèces étudiées. En deuxième

position se trouve *Klebsiella sp.* avec (22%). En troisième et quatrième position se trouvent *Proteus sp.* (14%), *Morganella sp.* et *Enterobacter cloacae* avec un pourcentage de (10%). Pour le reste des souches, le pourcentage obtenu durant la période de cette étude n'est pas significatif (**Figure 22**).

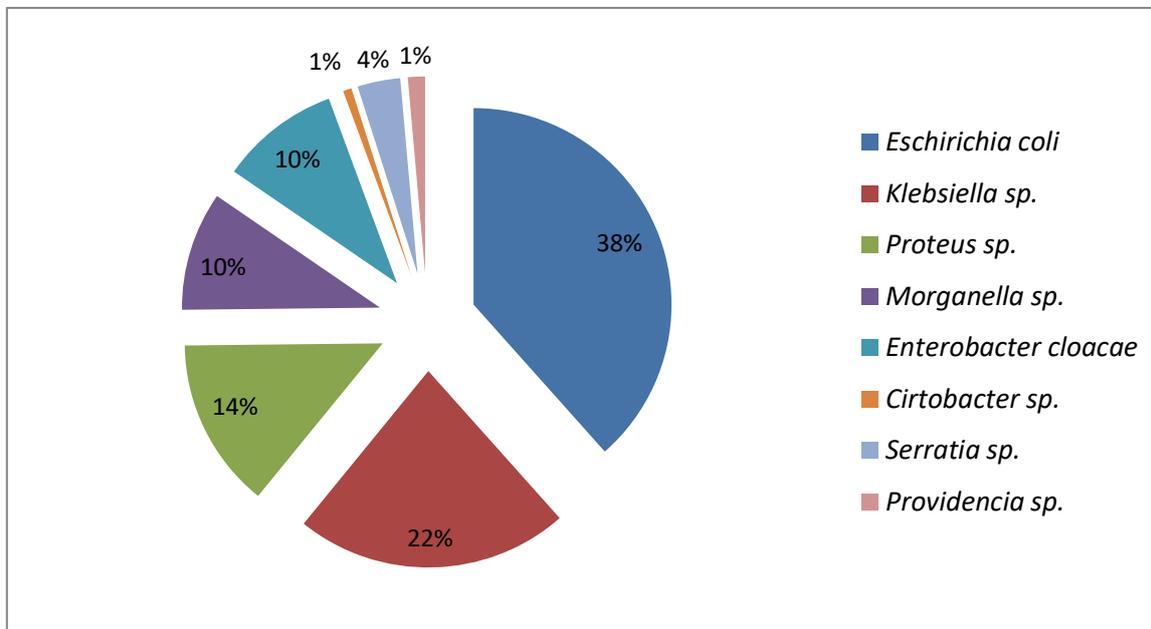


Figure 22 : Répartition d'infection à entérobactéries selon l'espèce.

Les résultats d'une étude effectuée à l'hôpital de Rabat-Salé au Maroc sont en contradiction avec les résultats obtenus dans cette présente étude, où le pourcentage de *Klebsiella sp.* a été impliqué dans (28%) de l'ensemble des cas retrouvés (72/253) (**Tlamcani et al, 2009**).

3.5 Taux de résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Les 143 souches d'entérobactéries ont été testées vis-à-vis de 22 antibiotiques. Ces molécules appartiennent à 5 familles : beta- lactamines (4 molécules), les céphalosporines (7 molécules), tétracyclines (1 molécule), aminosides (4 molécules), quinolones/ fluoroquinolones (2 molécules). Plus 4 autres antibiotiques ne faisant pas partie de ces familles (Colistine, fosfomycine, chloramphénicol et Sulfamethoxazole+Trimethoprim).

3.5.1 Taux de résistance d'*Escherichia coli*

Au cours de cette étude un total de 55 souches d'*E. coli* a été isolé. Les résultats de leur résistance aux antibiotiques testés sont présentés dans l'histogramme 23 (**annexe 7**).

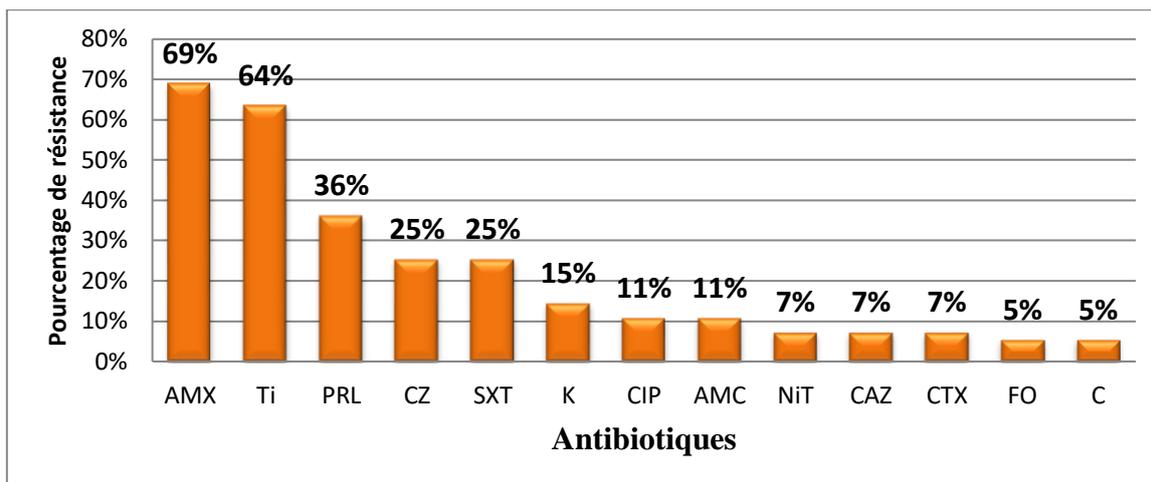


Figure 23 : le taux résistance des souches *d'E. coli* vis-à-vis des antibiotiques testés

Le taux de résistance le plus élevé était vis-à-vis aux antibiotiques de la famille des betalactamines (AMX, PRL, TIC) avec une moyenne de (56%). Par ailleurs un taux de résistance (11%) pour l'association amoxicilline –acide clavulanique (AMC).

Ces résultats corroborent avec ceux de la littérature. En effet, dans une étude réalisée sur le profil de résistance aux antibiotiques des agents pathogènes des voies urinaires chez les enfants, l'augmentation de la résistance était plus marquée pour la famille des betalactamines (ampicilline 58,2% et amoxicilline-acide clavulanique 16%) (**Gunduz et al, 2018**). Dans leur étude en Tunisie, **Ferjani et al. (2010)** ont également rapporté un taux de résistance remarquable chez *d'E. coli* vis-à-vis à l'amoxicilline (85%). Ces résultats sont largement loin de ceux obtenus par **Fabre et al. (2010)** en France, lors d'une étude faite sur la sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolés d'infections urinaires, dans laquelle il a trouvé des taux de résistance à l'ampicilline (57%), amoxicilline-acide clavulanique (73%).

Pour les céphalosporines ; les taux de résistances enregistrés dans cette présente étude étaient de (25%) pour la Céfazoline (CZ), (4%) pour Cefoxitine (CX) et (7%) pour Céfotaxime (CTX) et Céfotazidine (CAZ) (**figure 23**). Ces chiffres sont proches à ceux obtenus par **Moutachakki et al. (2014)** qui a enregistré un taux de résistance d'*E.coli* aux céphalosporines de 3^{ème} génération de (21%).

Des taux de résistances relativement plus faible vis-à-vis aux aminosides (K) et aux quinolones (NIT, CIP) ont été enregistré (de 7% à 15%) (**Figure 23**). Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Lahlou et al. (2009)** qui ont indiqué que les aminosides conservent une bonne activité sur *E. coli*.

Résultats et discussion

Par ailleurs, la colistine (CT), fosfomycine (FOS) et le chloramphénicol (C), restent les antibiotiques les plus actifs sur *Escherichia coli* avec un très faible taux de résistance (**figure 23**). Les résultats de **Mouy et al. (2007)** sur la sensibilité d'*E. coli* isolée d'infection urinaire, sont compatibles avec les résultats de ce présent travail où la fosfomycine garde une excellente activité sur *E. coli*.

En se basant sur l'analyse des résultats de l'antibiorésistance d'*E. coli* fournis par cette étude et par les différentes recherches scientifiques trouvés dans la littérature, nous avons pu ressortir les points suivants :

- La résistance aux pénicillines, amoxicilline et Ticarcilline est acquise ce qui aboutit à la pression de sélection liée à la consommation abusive de ces antibiotiques, par conséquent on trouve l'émergence de nouvelles souches résistantes suite à l'automédication et aussi aux traitements mal conduits (doses insuffisantes et traitements de courtes durées).

- La résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique peut s'expliquer par une baisse de l'activité de l'inhibiteur des bêta-lactamases, résultante d'une hyperproduction de pénicillinases, ou de l'inactivation de l'inhibiteur lui-même.

- L'émergence d'*E. coli* résistante aux C1G (Céfalotine et Céfotaxime) traduit l'augmentation continue de la fréquence des souches productrices de BLSE dans les hôpitaux.

- L'utilisation en première intention des fluoroquinolones comme traitement probabiliste pourrait justifier l'émergence de la résistance aux quinolones, d'autant plus qu'il a été recommandé par les conférences de consensus en remplacement de l'amoxicilline (**Gonsu et al, 2014**).

3.5.2 Taux de résistance de *Klebsiella sp.*

D'après les résultats obtenus dans cette étude, 32 patients se sont révélés être positifs à une infection causée par *Klebsiella sp.* Les résultats de la résistance de ces souches vis-à-vis aux antibiotiques testés sont mentionnés dans l'histogramme 24 ci-dessous (**Annexe 7**).

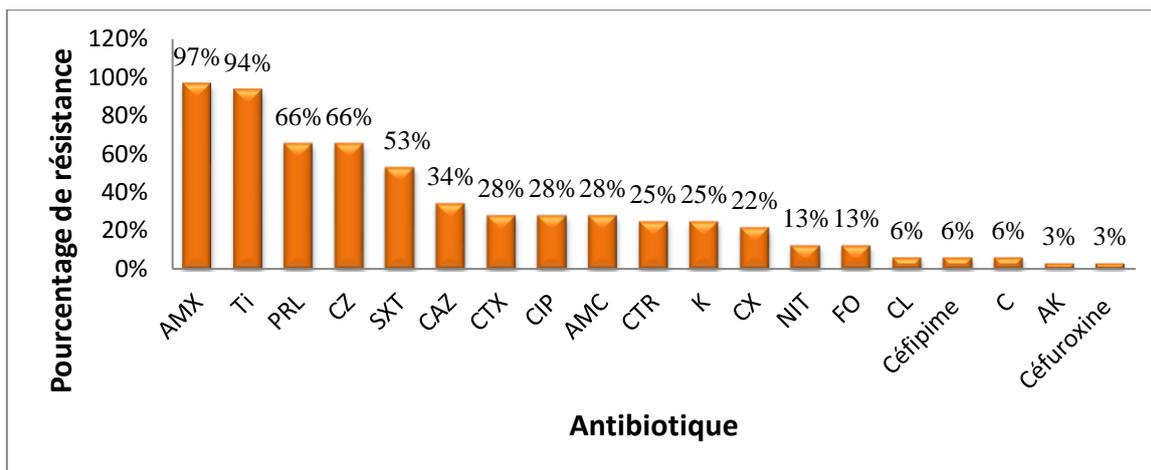


Figure 24 : taux de résistance des souches de *Klebsiella sp.* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Nous avons observé une résistance de *Klebsiella sp.* pour la famille des betalactamines (AMX, TIC, PRL) avec des taux de résistance entre (66% et 97%) à l'exception de l'AMC (28%), et une résistance moyenne pour les céphalosporines, se situant entre (22% et 66%). Cela est probablement dû à la production d'une β -lactamase de classe A de nature chromosomique par *Klebsiella sp.* et ce qui fait de cette dernière, une bactérie naturellement résistante (Vora et Auchenthaler, 2009). Et pour la triméthoprimine (SXT) un taux de résistance de 53%.

Les aminosides sont moins actifs sur les souches de *Klebsiella sp.* un taux de résistance de (25%) a été noté vis-à-vis à la Kanamycine

Concernant les quinolones, un taux de résistance compris entre (13% et 28%) a été enregistré, ceci peut s'expliquer par l'utilisation abusive de ces molécules en médecine humaine, chose qui a fait augmenter la résistance des *Klebsiella sp.* Vis-à-vis à ces antibiotiques et a réduit leur efficacité. Cette résistance est communément acquise à travers une mutation chromosomique que par échange de plasmides, ou bien encore par des changements dans la perméabilité ou efflux (Arafa, 2009). Enlever pas leur place

Les plus faibles taux de résistances ont été observés pour le reste des antibiotiques tel que la colistine (CT), le chloramphénicol (C) et le Céfipime, avec des taux de résistance similaires (6%). Un taux de résistance de 3% a été enregistré vis-à-vis à l'Amikacine et le Céfuroxime.

En 2016, une étude menée par Benbella (2016) au Maroc, a rapporté des résultats comparables à ceux de cette présente étude, où les souches de *Klebsiella sp.* étaient

relativement résistantes à l'amoxicilline-acide clavulanique (53,85%), aux ciprofloxacine (35,06%) et aux céphalosporines (32,84%).

En revanche, d'autres études sont contradictoires aux résultats obtenus. **Moutachakir et al. (2014)** ont trouvé dans leur étude au Maroc une résistance de *Klebsiella sp.* à l'amoxicilline de (100%) et à la gentamycine de (45%). Une étude menée en France a révélé que l'amikacine et la fosfomycine étaient les molécules les plus actives sur l'espèce *Klebsiella sp.* Avec des taux de résistances (12,9% et 13,4%) respectivement (**Tsiazok et al, 2015**).

3.5.3 Taux de résistance de *Morganella sp.*

D'après les résultats résumés dans l'histogramme 25, (**annexe 7**) seulement 14 souches de *Morganella sp.* ont été isolées pendant la période d'étude rétrospective et prospective.

Nous avons enregistré une résistance totale vis-à-vis de l'amoxicilline (AMX), la Cefoxitine (CX) et la Nitrofuratoine (NIT). Ainci qu'une résistance relativement importante pour la Ticarcilline (TIC) avec (93%). Un taux de résistance de (79%) à la Céftriaxone a été enregistré, suivie de la colistine (CL) et la Céfuroxime, avec des pourcentages similaires (64%).

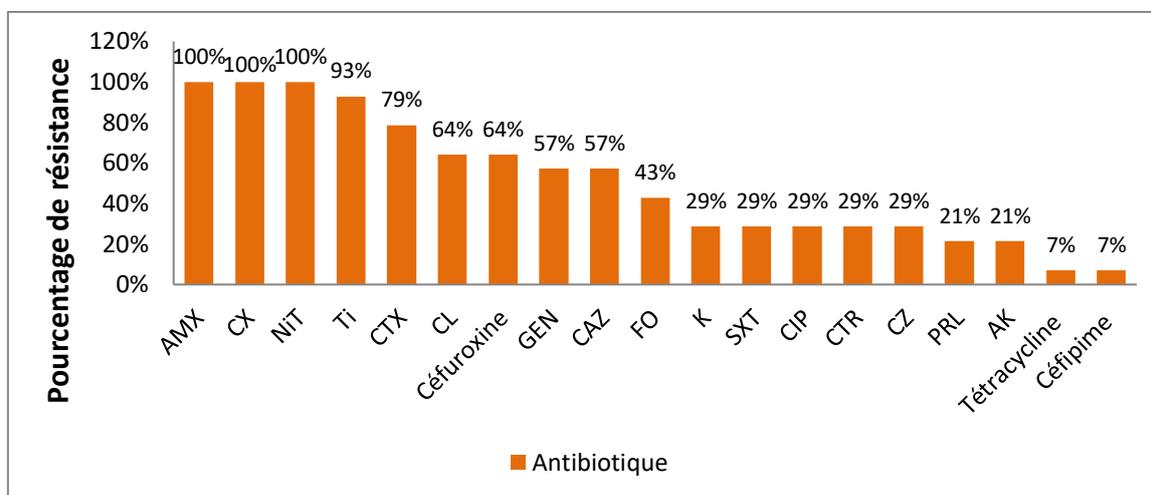


Figure 25 : taux de résistance des souches de *Morganella sp.* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Ces taux de résistance soulignent bien la résistance naturelle de *Morganella* à l'ampicilline, aux céphalosporines de 1ère et 2ème génération ; et une sensibilité naturelle aux

céphalosporines de 3^{ème} génération, aux aminosides et aux fluoroquinolones (**Boussemart et al, 2004**).

Les résultats obtenus dans l'étude de **Vu-Thien (1998)** sont en adéquation avec nos résultats et qui révèlent la résistance constante de la bactérie *Morganella* aux pénicillines (AMP, AMX, AMC).

3.5.4 Taux de résistance de *Proteus sp.*

Les résultats des tests d'antibiorésistances, concernant les 20 patients ayant une infection due à *Proteus sp.* sont illustrés dans l'histogramme 26 ci-dessous (**annexe 7**).

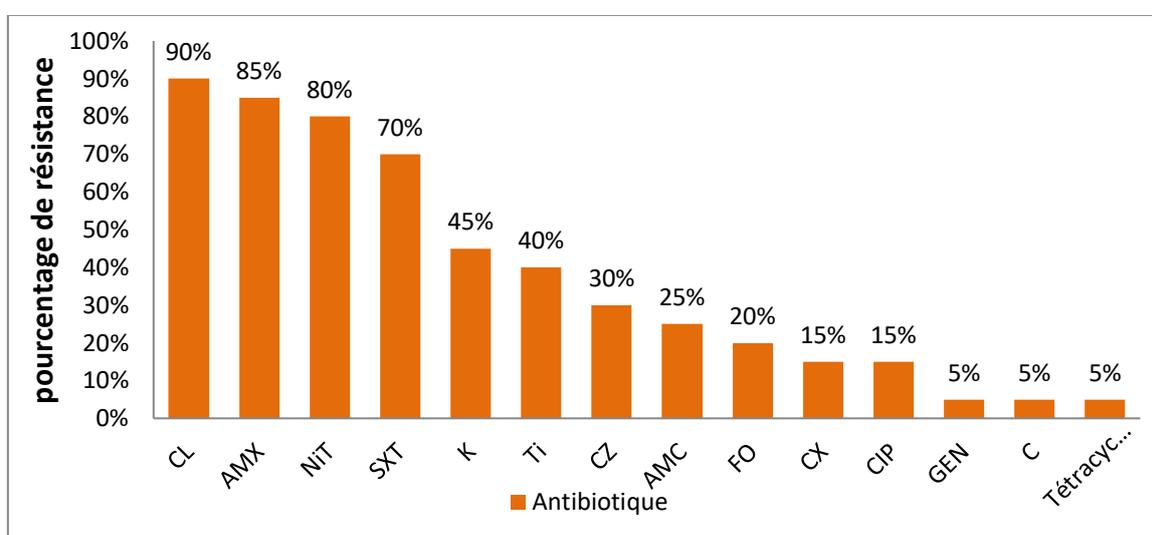


Figure 26 : taux de résistance des souches de *Proteus sp.* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Selon l'histogramme 27, les souches de *Proteus sp.* étudiées présentent des taux de résistances élevés vis-à-vis des betalactamines testées : 85% pour l'amoxicilline (AMX), 40% Ticarcilline (TIC). En ce qui concerne l'association de l'Amoxicilline+ acide clavulanique (AMC), le taux de résistance est de (25%) et de 15% à 80% pour les quinolones.

Proteus sp. est naturellement sensible à toutes les β -lactamines, l'élévation de la résistance de nos souches isolées se traduit par une résistance acquise qui peut être due à une mutagenèse ou à un transfert de gènes (**Mendaci et Mihoubi, 2015**). Cette résistance peut être également associée à l'émergence et l'extension de nouveaux mécanismes de résistance liée à la sécrétion de β -lactamases. En effet, *Proteus sp.* est capable de sécréter une grande

diversité de β -lactamases plasmidiques et pourrait constituer ainsi un réservoir de plasmides (Mahamat *et al*, 2006).

Proteus sp. présente des taux de résistance relativement élevée vis-à-vis à la colistine (CT) et à la triméthoprim (SXT) (90%, 70% respectivement) (Figure 26).

Par ailleurs, une résistance relativement plus faible a été notée vis-à-vis des céphalosporines (entre 15% et 30%).

Ces résultats viennent rejoindre ceux de Moutachakkir *et al.* (2014), qui a mis en évidence dans son étude au Maroc, une résistance de *Proteus sp.* à la ciprofloxacine (14%) Cavallo *et al.* (2000) ont également rapporté que les souches de *Proteus sp.* sont résistantes à la ciprofloxacine et aux pénicillines.

3.5.5 Taux de résistance d'Enterobacter sp.

Si on analyse nos résultats dans leur ensemble, on peut dire que durant la période considérée (Janvier 2021 au juin 2022), 14 souches d'Enterobacter sp ont été isolées et les résultats de leurs antibio-résistance sont résumés dans l'histogramme 27 ci-dessous (annexe7).

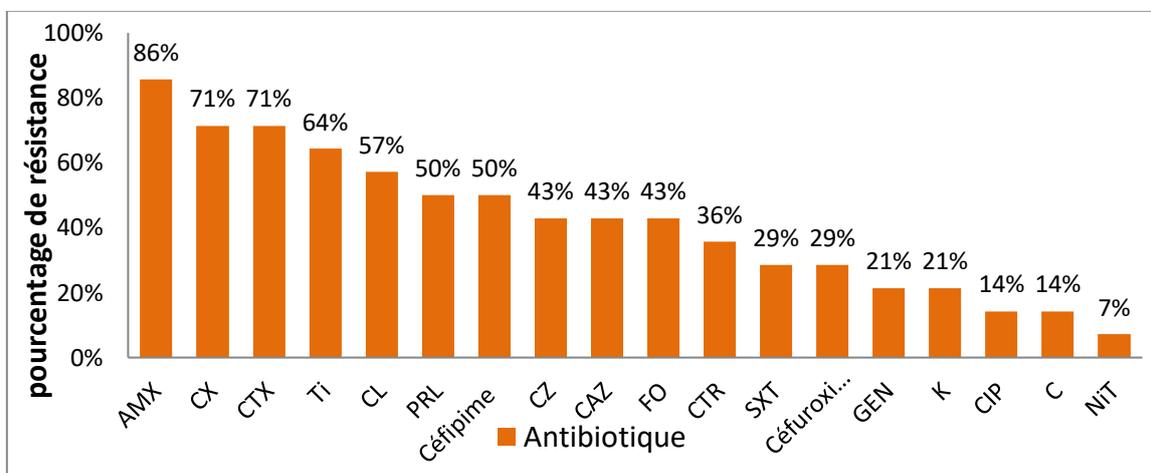


Figure 27 : taux de résistance des souches d'Enterobacter sp. vis-à-vis des antibiotiques testés

D'après ces résultats, une résistance élevée à l'amoxicilline (AMX) (86%), à la Ticarcilline (TIC) (64%) et à la pipéracilline (PRL) (50%) a été enregistré. De plus, les

Résultats et discussion

souches d'*Enterobacter sp.* étaient relativement résistantes aux céphalosporines de 1^{ère} génération (CZ) (42%), et à la triméthoprine (SXT) (29%).

Les plus bas taux des résistances étaient notés pour le chloramphénicol et Ciprofloxacine (C, CIP) avec un taux de résistance identique (14%), suivie du Nitrofuratoine (NIT) (7%).

Cette résistance peut être due à sur la pression de sélection exercée par les antibiotiques. Mais à côté du mode d'utilisation des antibiotiques, il est probable que de nombreux autres facteurs interviennent, tels que les modalités d'administration, les durées de traitement, la connaissance de l'écologie locale et bien sûr l'efficacité des mesures visant à diminuer la dissémination de ces souches (**Bajaddoub, 2008**).

Le travail de **Younes (2008)** effectué à l'hôpital ibn Sina du Maroc a également montré que ces bactéries présentent une forte résistance aux pénicillines et une bonne efficacité à la ciprofloxacine.

3.5.6 Taux de résistance de *Serratia sp.*

Durant la période d'étude rétrospective et prospective, 5 souches de *Serratia sp* étaient isolées. Les résultats de leurs résistances aux antibiotiques testés sont résumés dans l'histogramme 28 ci-dessous (**annexe 7**).

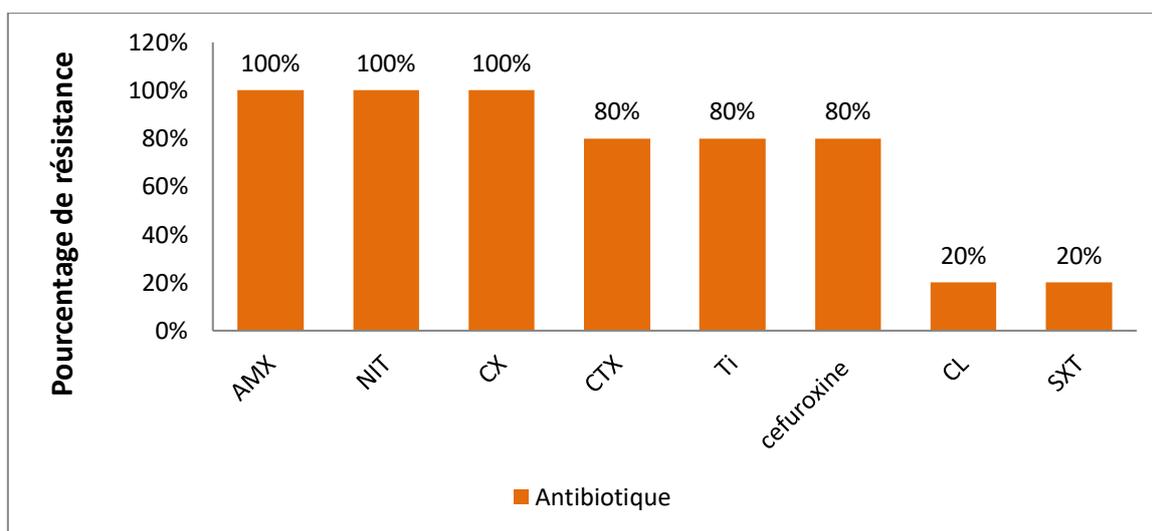


Figure 28 : taux de résistance des souches de *Serratia sp.* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Résultats et discussion

Les résultats montrent que *Serratia sp.* présente une résistance totale vis-à-vis à l'amoxicilline (AMX), la cefoxitine (CX) et la Nitrofuratoine (NIT).

D'après la figure 28, la résistance des souches de *Serratia sp.* est relativement très élevée vis-à-vis de la famille de céphalosporines Céftriaxone (CTX) et Céfuroxime, ainsi que le Ticarcilline (TIC) avec un pourcentage identique de (80%).

Le plus faible taux de résistance (20%) a été observé pour le reste des antibiotiques la colistine (CT), Sulfamethoxazole+Trimethoprim (STX).

Les résultats obtenus sont un peu loin de ceux obtenus par **Ousmane et al. (2019)**, qui rapporté un taux de résistance aux pénicillines de (59,49%) et aux céphalosporines de (15, 18%).

Conclusion

Conclusion

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif qui constituent une part importante des bactéries isolées lors du diagnostic bactériologique des infections humaines. Notre étude au niveau de l'unité de bactériologie de l'EPH el khroub a permis de mettre en évidence le taux d'infections à entérobactéries isolées ainsi que leurs profils de résistances aux antibiotiques.

A la lumière des résultats obtenus, il en ressort que les femmes sont les plus exposées aux infections à entérobactéries avec un taux de (60%) contre (40%) chez les hommes. Les entérobactéries ont été isolées essentiellement d'urines, de pus, de prélèvements vaginaux, d'hémocultures et de prélèvements divers. Les principales espèces d'entérobactéries isolées étaient : *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Enterobacter cloacae* et *Morganella sp.*

L'étude de la résistance aux antibiotiques au cours de la durée de ce travail montre que ces espèces avaient une résistance très élevée presque à toutes les molécules de la famille des bêta-lactamines.

D'après l'analyse des résultats de l'antibiogramme des souches d'*E. coli*, le taux de résistance aux antibiotiques devient plus élevé et atteignant des taux inquiétants pour certains d'entre eux, notamment aux amoxicillines, Ticarcilline et pipéracilline. En revanche, le Nitrofuratoine, le Céfazoline, Céftriaxone, la fosfomycine et le chloramphénicol demeurent les molécules les plus actives. Cette résistance est pareille pour *Klebsiella sp.* à l'exception du Amikacine et Céfuroxime qui présente une résistance assez faible. Concernant *Proteus sp.* le taux de résistance est moyen pour les pénicillines et la fosfomycine.

En perspective, les résultats de ce modeste travail constituent les bases d'un travail à poursuivre et à améliorer pour une étude beaucoup plus approfondie qui pourra faire l'objet d'une thèse de doctorat en prolongeant d'une part la durée de l'étude et en exploitant d'autre part plus de pistes, tel que l'étude moléculaire des gènes de résistances des entérobactéries.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aboubacar A GORO.M.** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020. Thèse de doctorat en pharmacie. Bamako : UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO (U.S.T.T.B),2020,118p.
- Achkour Z.** Emergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à gram négatif. Thèse de pharmacie. Rabat :Université Mohamed V, 2012, 7-8-9.
- Arafa N.** Caractérisation phénotypique et génotypique de souches de *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* isolées à l'hôpital universitaire de Constantine. Algérie. Sciences & technologie C, 2009 , 30 : 47.
- Avril L, Darbernat H, Denis F, et Monteil H.** Bactériologie clinique 3ème génération. Paris: Ellipses édition marketing, 2000.
- Bajaddoub Z.** Facteurs de risque des infections urinaires nosocomiales : étude prospective randomisée. Service d'urologie Hôpital Ibn Tofaïl. CHU Mohammed VI. Marrakech. 2008, 97 : 3.
- Ball P.** Quinolone generations. Natural history or natural selection, 2000 :17-24.
- Baysarowich J, Koteva k, Hughes D.** Rifamycin antibiotic resistance by ADP-ribosylation: Structure and diversity of Arr. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008, 105:12.
- Benbella I.** Les infections urinaires nosocomiales au chu hassan de Fès : profil bactériologique et antibiorésistance. Université sidi Mohammed ben Abdellah. Mémoire de fin d'étude. 2016 : 35.
- Benrabeh M et Mechri S.** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires en milieu hospitalier (HMRUC). Mémoire de Master professionnel. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine 1,2020 ,117 p.
- Bonnet R.** Beta-lactamines et entérobactéries. Paris: ESKA16, 2012.
- Boone D.R, et Garrity G.** Bergey's manual of systematic bacteriology. The archaea and the deeply branching and phototropic bacteria. New york: Springer-verlag, 2001.

Références bibliographiques

- Bouazza S, et Bouakka N.** Recherche des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi dans la viande rouge. Mémoire de master en microbiologie appliquée à la sante et à l'environnement., Université de Tébessa., Tébessa, 2016, 7.
- Boussemart T, Piet-Duroux S, Manouana M, Azi M, Perez JM, Port-Lis M.** Morganelle morganii et infection maternofoetale. Archives de pédiatrie. 2004 ,11: 37-39.
- Brahmia, R, Medareg narou S, Tolba I.** La résistance des bactéries aux antibiotiques dans l'hôpital d'Oued Zenati. Mémoire de master en microbiologie de l'environnement , Université Guelma, Oued Zenati, 2016, 19-22-23.
- Bricaire L, Bricaire F.** Maladies infectieuses. paris: Elsevier Masson SAS, 2007.
- Brrehil, H, et Bouzeraa A .** Bactériologie des entérobactéries isolées au niveau du service de réanimation de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC). Mémoire de master, 2018.
- Brun-Buisson C.** «Pneumopathies nosocomiales.» Dans Les infections nosocomiales et leur prévention, de Jean-Loup Avril et Jean Carlet, 1998, 132-151.
- Bryskier A.** Epidémiologie de la résistance aux antibactériens. In : Bryskier A. Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Paris: Ellipses, 1999.
- Carpenter J.L.** Klebsiella pulmonary infections: occurrence at one medical center and review. Reviews of Infectious Diseases, 1990, 12 : 672-682.
- Cavallo J. D, Péan Y. et Weber P.** Facteurs influant sur la fréquence et sur le niveau de sensibilité aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli et Proteus mirabilis isolées au cours des infections urinaires chez les patients ambulatoires. Médecine et maladies infectieuses. 2000, 30 : 717 - 718.
- Cavallo, J.D, R Fabre, F Jehl, C Rapp, et E Garrabé.** Béta-lactamines. EMC Maladies infectieuses ,2004, 1: 129-202.
- Changeur N, Cherruault M.** Pharmacologie des aminosides (aminoglycosides). 2009, 3.
- Collège national des enseignants de réanimation médicale.** Réanimation et urgences.: Masson, Paris, 2005.

Références bibliographiques

- Courvalin, P, R Leclercq, et E Bingen.** Antibiogramme. Editions ESKA, 2006.500p
- Cristian C.** Microbiologie hygiène base microbiologiques de la diététique. Paris: ED TEC & DOC lavoisier, 2008, 76-86-257.
- Daniau C, Léon L, Berger-Carbonne A.** «Enquete nationale de prevalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissement de santé.» Raisin, CCLIN, InVS. 2012, 186.
- Davison, J.** Genetic exchange between bacteria in the environment. Plasmid. 1999, 42: 73-91.
- Decoster, A., et J.C. Lahieu.** Cours de Bacteriologie : Les entérobactéries. 2006.
<http://anne.decoster.free.fr/bgn/enterob.html>. (accès le mars 15, 2016).
- Delmeee M.** Microbiologie médicale. Louvain: Université Catholique;2004.
- Denis F, Ploy M.C, Martin C, Bingen E, et Quentin R.** Bactériologie médicale : Techniqueq usuelles. Ed Elsevier Masson SAS, 2007, 335-401.
- Dentan C,** Interne, Fluoroquinolones, Service des Maladies infectieuses Prs Stahl et Epaulard, Grenoble Janvier, DU «Thérapeutiques anti-infectieuses»,2015, 103 p.
- Doran T.I.** The role of Citrobacter in clinical disease of children. Clinical Infectious Diseases,1999, 28 : 384-394.
- Fabre R. Mérens A, Lefebvre F, Epifonoff G, Cerutti F, Pipin H, Tardif I, Cavallo D.J, Ternois I.** Sensibilité aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires. Médecine et maladies infectieuses. 2010, 40 : 557.
- Falagas M.E., Kavvadia P.K., Mantadakis E., Kofteridis D.P., Bliziotis I.A., Saloustros E., Maraki S. & Samonis G.** *Morganella morganii* infections in a General Tertiary Hospital. Infection,2006, 34 : 315-321.
- Farmer J.J., Boatwright K.D. & Janda J.M.** Enterobacteriaceae : Introduction and identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A.P faller (Eds.), Manual of Clinical microbiology, 2007, 669p
- Fauchère, J.L, et Avril J.L.** Bactériologie générale et médicale. Paris: Ellipses Edition Marketing, 2002.

Références bibliographiques

- Fauchere, J.L.** BACTERIOFICHES: Techniques en bactériologie clinique. Paris: Ellipses, 1997, 39-43.
- Ferjani A, Makaddemi H, Tilouche S, Marzouk M, Hannechi N, Boughammoura L, Boukadida J.** Caractéristiques épidémiologiques et bactériologiques des bactéries uropathogènes isolées dans un milieu pédiatrique. Archives de pédiatries. 2010, 18 : 232.
- François H, Brandstatter A, Bréchet C, Huttner A.** Infections urinaires, 2013, 3.
- Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P.** Précis de bactériologie clinique. Paris: Editions EKA, 2000.
- Gautier V.** Caractérisation et expression des gènes codant pour les b-actamases chromosomique au sein des entérobactéries de l'environnement. Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'école des hautes études, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 2007, 25.
- Gonsu Kamga H, Nzengang R, Toukam M.** Phénotypes de résistance des souches d'Escherichia coli responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaounde (Cameroun). African journal of pathology and microbiology . 2014, 3 : 2.
- Guiraud P.J.** Microbiologie alimentaire. Paris: les preses ISBN, 2012.
- Gunduz S, Uludağ Altun H.** Antibiotic resistance patterns of urinary tract pathogens in Turkish children. Glob health res policy. 2018, 3: 10.
- Habi S.** Etude de la métallos-résistance et de l'halo-tolérance des entérobactérie isolées des eaux de surfaces de la région de sétif. Thèse de doctorat, université de sétif 1, sétif, 2009.
- Hauser G.** About not bacteria and their relationship to Septicemia. Leipzig: Vogel, 1885.
- Holmes B, Aucken H.M.** Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia and other members of the Enterobacteriaceae. Microbiology and Microbial infections: Systematic Bacteriology, 9th edition, 1998, 1033 p.
- Hooper D.C.** Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. Clinical infectious diseases ,2000,31: 24-28.

Références bibliographiques

- Iabadene H, Messai Y, Alouache S, Arlet G. & Bakour R.** Mécanismes de résistance aux β -lactamines et aux quinolones d'Enterobacter dans les hôpitaux d'Alger. Revue Tunisienne d'Infectiologie, 2010, 4 : 24 p
- Jim O.** "Résistance aux antimicrobiens : les enjeux de la réunion des Nations Unies," Bull, l'organisation Mond, la santé, 2016 , 94 :63.
- Joly B, Reynaud A.** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Paris: Edition Techniques et Documentation, 2007.
- Khayar Y.** Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique et l'ertapenème.Thèses de doctorat en pharmacie , Université Mohames V, RABAT, université mohammed v de rabat , 2011.
- Konare S.** Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées en 2016 au laboratoire médicale et hygiène hospitalière du chu du point G. Thèse de doctorat en pharmacie., Université des sciences,des techniques et des technologies de Bamako, Bamako, 2017, 4-5-6-23.
- Kumar A, Charkraborti S, Joshi P, Charkraborti P, Charkraborty R.** A multiple antibiotic and serum resistant oligotrophic strain, klebsiella pneumoniae mb45 having novel dfra30, is sensitive to zno qds. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 2011, 10: 1-11.
- Lagha N.** «Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices des beta-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Lagouat.» Thèses de doctorat en science , Leghouat, 2015, 7-8.
- Lahlou Amine I, Chegri M, L'kassmi H.** Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. Science direct, 2009, 11: 90-96.
- Larouche, G.** «Les quinolones: des années soixante à aujourd'hui.» Pharmactuel, 2001, 34: 7.
- Lee I.K & Liu J.W.** Clinical characteristics and risk factors for mortality in Morganella morganii bacteremia. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 2006, 39 : 328-334

Références bibliographiques

- Livermore, D.M.** «Beta-Lactamses in laboraory and clinical resistance.» *Clicical Microbiology Reviews*, 1995,8 : 557-584.
- Madigan M, Martinko J.** *Biologie des micro-organismes.* France: Pearson Education, 2007.
- Mahamat A. Lavigne J.P, Bouziges N, Daurés J.P, Sotto A.** Profils de résistance des souches urinaires de *Proteus mirabilis* de 1999 à 2005 au CHU de Nîmes. *Pathologie biologie*.2006, 54 : 460.
- Malki L, Berriche A.** «les infections urinaires: contribution à la recherche des espèces multi-résistantes.» Mémoire fin d'étude en microbiologie appliquée, CHU Nadir mohamed , Tizi Ouzou, 2019, 8.
- Méité S. Boni-Cissé C. Monemo P. Mlan Tanoa Ap. Faye-Ketté H. Dosso H.** Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau tertiaire : exemple du chu de Yopougon, abidjan, cote d'ivoire. *J. sci. pharm. Biol*, 2011, 11:73-81.
- Mendaci A. et Mihoubi S.** Profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*). Mémoire fin d'étude. Université des frères Mentouri Constantine.2015, 44.
- Meziani M.** «Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissemet des parents phylogénitiques : cas des entérobactéries et *pseudomonas*.» mémoire de magistère, Université mentouri, Constantine, UNIVERSITÉ mentouri constantine, 2012, 03.
- Mingeot-Leclercq M.P, Glupczynski V, Tulkens P.M.** «Aminoglycosides; Activity and Resistance.» *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* , 1999, 34 : 727-737.
- Minor L, Veron M.** *Bactériologie médicale* 2e édition. paris: Edition Flammarison Médecine, 1989.
- Mirabaud M.I.** Entérobactéries a B-lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996. La Faculté de Médecine de l'Université de Genève. Thèse de Doctorat en médecine.2003.
- Moukoro P, Diakite A.** «Recherche et étude de *Vibrio cholerae* dans les eaux usées d'oued Boumerzoug.» Université des frères Mentouri, constantine, 2015, 24-41.

Références bibliographiques

- Moutachakir M, Chinbo M, Elkhoudri N, Soraa N.** La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech. *Journal de pédiatrie et de puériculture.* 2014, 28 : 3.
- Mouy D, Fabre R. et Cavallo J.-D.** Infections urinaires communautaires de la femme de 15 à 65 ans : sensibilité aux antibiotiques d'E. Coli en fonction des antécédents : étude AFORCOPI–BIO 2003. *Médecine et maladies infectieuses.* 2007, 37: 397.
- Muylaert A, Mainil J.G.** «Résistances aux fluoroquinolones;la situation actuelle.» *Annales De medecine veterinaire,* 2013, 157: 15-26.
- Nataro J.P, Kaper J.B.** «Diarrhegenic Escherichia coli.» *Journal of Clinical Microbiology ,* 1998, 11: 142-201.
- Nordmann P, Mammeri H.** 2007. Résistance plasmidique aux quinolones. *Antibiotiques,* 9, 246-53.
- Nordmann P.** Entérobactéries productrices de carbapénémases: état d'urgence. *La lettre de l'infectiologue.* 2011;16 :200–201.
- OMS “RESIS ”** 2014. Rapport OMS.
- Ousmane A, Abdoulaye M, Mahaman L, Oumarou A, Amy Abba H, Ahmadou B, Moussa I.** Profil des germes uropathogènes communautaires isolés en milieu pédiatrique à Niamey au Niger. *The journal of medical and health sciences.* 2019, 20 : 87.
- Patricia A. Bradford** Extended-Spectrum bêta-Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistant Threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001, 14 :933.
- Pepperell C, Kus J.V, Gardam M.A, Humar A. & Burrows L.L.** Low-Virulence Citrobacter Species Encode Resistance to Multiple Antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 2002, 46 : 3555-3560.
- Perriere G.** Application d'une présentation par objet des connaissances de modalisation certains aspects de l'expression des gènes chez E.coli. thèse de doctorat en pharmacie, lyon: Université Claude Bernard, 1992, 77.

Références bibliographiques

- Perry JJ, Staley J.T, Lory S.** Microbiologie DUNDO. paris, 2004.
- Pilet C.** Les entérobactéries: Bactériologie médicale et vétérinaire; systématique bactérienne. Paris: Doins, 1979.
- Pilly E.** Maladies infectieuses tropicales. Paris: Groupe burlat, 2013.
- Podschun R. & Ullmann U.** Klebsiella spp. as nosocomial pathogens : epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clinical Microbiology Review,1998, 11 : 589-603
- Poole K.** «Aminoglycoside resistance in Pseudomonas aeruginosa.» Antimicrobial Agents and Chemotherapy . 2005, 43 : 479-487.
- Qassimi L.** « Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation.» Thèse de doctorat en médecine., Université Sidi Mohammed Ben Abd-Ellah, Meknès, 2010, 43.
- Qureshi Z.A, Paterson D.L, Pakstis D.L, Adams-Haduch J.M, Sandkovsky G, Sordillo E, Polsky B, Peleg A.Y, Bhussar M.K. & Doi Y.**Risk factors and outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacter cloacae bloodstream infections. International Journal of Antimicrobial Agents, 2011, 37 : 26-32.
- Ramdani N, Seghier M, Belouni R, et Bensliman A.** «manuel de microbiologie.» les presses de l'office des publications universitaires, 2009, 91-92.
- Rice L.B.** «GENETIQUE DE LA RESISTANCE.» ANTIBIOGRAMME , 2012, 3 : 25-37.
- Ryan K.J.** Enterobacteriaceae. Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious diseases. Kenneth J. Ryan, C. George Ray, editors, 4th editions, 2004, 979 p.
- Savey A, Machut A.** Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte. France: Réseau REA-Raisin, 2015.
- Schwarz S, Chalus-Dancla E.** «Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance.» Veterinary research, 2001, 32 : 201-225.
- Souna D.** Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Enterobacter cloacae. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers .Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algerie, 2015, 161 p.

Références bibliographiques

- Stone P.W., Gupta A., Loughrey R.N., Della-Latta P.H., Cimiotti R.N., Larson E., Rubenstein D. & Saiman L.** Attributable Coast And Length Of Stay Of An Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Outbreak In A Neonatal Intensive Care Unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 2003, 24 : 601-606
- Stratton, C.W.** «Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents.» *Lebanese Medical Journal*, 2000, 48: 186-198.
- Taha, M. K., Zarantonelli M. L, Ruckly C, Giorgini, et Alonso J. M.** «Rifampinresistance *Neisseria meningitidis*.» *Emerging Infectious Disease*. 2006, 12: 859-860.
- Talbert M, Willoquet G, Gervais R.** Guide pharmaco clonique. Italie: Les preses d'imprimer LEGORPRINT, 2015.
- Tlamcani Z., Ellaia K, Benomar A, Kabbaj H., Aloui A, Seffar M.** Resistance to fluoroquinolone among *Klebsiella* sp. strains producing extended spectrum betalactamases isolated from urine. Paris: *Ann Biol Clin*;67 (5):553-6.
- Touati M.** «Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation du CHU Annaba.» THèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en microbiologie , Université Badji Mokhtar, Annaba, 2013, 156.
- Tsiazok M, Ebongue C.O, Ngaba G.P, Adiogo A.** Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital général de Douala de 2005 à 2012. *The pan african medical journal*. 2015, 20 : 227.
- Vakuleko S.B, Mobashery S.** «Versatility of aminoglycosides and prospects for their future.» *Clinical Microbiology reviews* , 2003, 16: 430-450.
- Van Bambeke F. & Tulkens P..** Pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse, Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire, Université catholique de Louvain, 2008, 212 p.
- Verhaegen J.** Cours de bactériologie : les entérobactéries. (2002). Disponible sur www.kuleuven.be/vesaliusonline/UNIKEN%20KONGO.doc.
- Vora S. Auckenthaler R.** Que signifie « bêta lactamases à spectre élargi » en pratique. *Médicale Suisse*. 2009, 5 : 1992.

Références bibliographiques

- Vu-Thien H.** Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les infections urinaires en pédiatrie. Archives de pédiatrie. 1998.5 : 267.
- Walsh C.** Antibiotics : actions,origins, resistance. Washington DC: ASM press, 2003.
- Xu M, Zhou Y.N, Goldstein B.P, Jin D.J.** «. Cross-Resistance of Escherichia coli RNA Polymerases Conferring Rifampin Resistance to Different Antibiotics.» Journal of Bacteriology. 2005, 187 : 2783-2792.
- Yala D, Merad A.S, Mohamedi D, Ouar korich M.N.** «Résistance Bactérienne ux antibiotiques.» Médecine maghreb, n° 91 (2001): 13.
- Younes Talibi M.** Infections urinaires à l'hôpital ibn Sina. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V. 2008, 100.

Annexes

Annexe 01: les milieux de culture et leur composition.

Milieu	Composition	Utilisation
	<p><u>Gélose Nutritive</u> -Pour un litre d'eau distillée : -extrait de viande de bœuf..3g -Peptone.....10g -Extrait de levure.....3g -Chlorure de sodium.....5g -Agar.....18g pH=7.2</p>	Milieu permet la croissance et la numération des germes non exigeants dans les eaux, les boissons, et les produits biologiques.
	<p><u>Gélose au sang frais</u> Pour un litre d'eau distillée : -Peptone de viande.....10g -Peptone de caséine.....5g -Extrait de levure.....3g -Chlorure de sodium.....5g -Agar.....18g -Sang de mouton.....50 ml pH=6.9</p>	Isolement des germes exigent parmi eux : les streptocoques se développent très bien par leur action hémolytique
	<p><u>Gélose au sang cuit</u> Pour un litre d'eau distillée : -Peptone de viande.....7.5g -Peptone de caséine.....7.5g -Amidon de maïs.....1g -Phosphate dipotassique.....4g -Chlorure de sodium.....5g -Hémoglobine.....10g -Agar.....10g -Sang de mouton.....50 ml pH=6.9</p>	Isolement des germes exigeants
	<p><u>Milieu de Chapman</u> -Peptone.....11g -Extrait de viande.....1g -Chlorure de sodium.....75g -Mannitol.....10g -Rouge de phénol.....0.025g -Agar.....15g pH=7.4</p>	C'est un milieu qui permet l'isolement sélectif de <i>staphylococcus</i> sur la base d'une tolérance à une forte teneur en Na Cl qui assure le pouvoir sélectif.

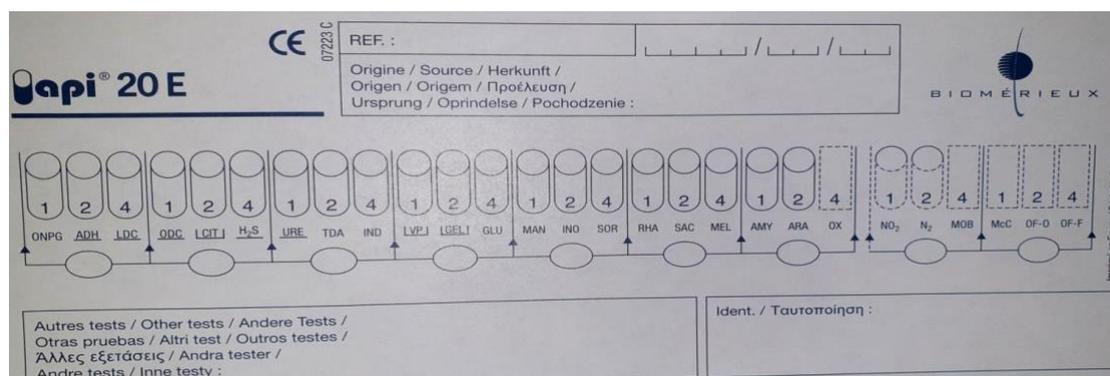
	<p><u>Gélose Mueller-Hinton</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Infusion de viande de bœuf.300ml - Peptone de caséine.....17.5g - Amidon de maïs.....1.5g - Agar.....10g - pH= 7.4 	<p>Milieu relativement riche, mais qui reste un milieu de base qui permet la culture des bactéries non exigeantes. Permet de la réalisation de l'antibiogramme standard (principale utilisation).</p>
	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone.....5g - Extrait de viande.....3g - Lactose.....10g - Bromocrésol pourpre..0,025 g - Agar.....11g - pH = 6,8 - Eau distillée.....qsp 1 L 	<p>La gélose BCP (BromoCrésol Pourpre) est un milieu non sélectif, lactosé, utilisé principalement pour la culture des bacilles à Gram négatif non exigeants.</p>

Annexe 02: Composition des réactifs de Gram.

Violet de gentiane	
- Phénol	2.0 g
- Violet de gentiane	1.0 g
- Éthanol à 90°	10 ml
- Eau distillée	100 ml
Lugol	
- Iodure de potassium	2.0 g
- Iode métalloïde	1.0 g
- Eau distillée	300 ml
Fuchsine de Ziehl	
- Fuchsine basique	1.0g
- Phénol	5.0 g
- Éthanol à 90°	10 ml
- Eau distillée	100 ml

Annexe 03 : tableau de virage de couleurs de la galerie Api 20E.

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révéléateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
[VP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
[GEL]	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ /N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

Annexe 04 : catalogue analytique de la lecture de galerie Api 20E.**Annexe 05:** Tableau de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition

Antibiotiques testés	Charge des disques (µg)	Résistante	Intermédiaire	Sensible
Ampicilline*	10	≤13	14-16	≥32
Amoxicilline-acide clavulanique	20/10	≤13	14-17	≥32/16
Céfazoline	30	≤19	20-22	≥8
Céfotaxime	30	≤22	23-25	≥26
Imipenème	10	≤19	20-22	≥23
Amikacine	30	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10	≤12	13-14	≥15
Acide nalidixique	30	≤13	14-18	≥19
Ciprofloxacine	5	≤15	16-20	≥21
Chloramphénicol	30	≤30	13-17	≥18
Fosfomycine	200	≤12	13-15	≥17
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75	≤10	11-15	≥4/76

*La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline

Annexe 06 : la fiche de résultat d'antibiogramme pour les entérobactéries

Etablissement Public Hospitalier Mohamed Boudiaf EL-KHROUB
Service Laboratoire
Unité de Microbiologie

Antibiogramme-Entérobactéries N° :

NOM : PRENOM : Age :

Prélèvement : Service :

Diagnostic Bactériologique :

- Amoxicilline			- Gentamycine		
-Amox+Ac Clavulanique			- Kanamycine		
- Ticarcilline			- Tobramycine		
- Pipéracilline			- Nétylmycine		
- Céfazoline			- Amikacine		
- Céfoxitine			- Ac-Nalidixique		
- Céfotaxime			- Pefloxacine		
- Céftazidime			- Ciprofloxacine		
- Cefipime			Sulfaméthoxazol+Triméthoprim		
- Céfuroxime			- Colistine		
- Ceftriaxone			- Chloramphénicol		
- Aztréonam			- Nitrofurantoine		
- Ertapénèm					
- Imipénèm					
- Fosfomycine					
- Tétracycline					

S : Sensible EL-Khroub Le :

R : Résistant

I : Intermédia

Annexe 07 : Taux des résistances des entérobactéries aux antibiotiques

	E.coli (N=55)	Kleb (N=32)	Morg (N=14)	Prot (N=20)	Entero (N=14)	Serr (N=5)	Prov (N=2)	Citro (N=1)	Totale
AMX	38	31	14	17	12	5	1	1	92
AMC	6	9	13	5	9	4			33
Ti	35	30	3	8	7				62
PRL	20	21	4		6				33
CZ	14	21	14	6	10	5	2	1	59
CX	2	7	11	3	10	4	1	1	33
CTX	4	9	8		6				19
CAZ	4	11	6		6				18
FO	3	4	8	4	3		1		16
GEN			4	1	3				4
K	8	8	4	9	4	1			24
SXT	14	17	9	14	8	1	1		49
CL	1	2	14	18	1	5	1		38
NiT	4	4	9	16	4	4	2	1	37
Céfuroxine		1	4		2				6
CIP	6	9	4	3	5				23
CTR		8	1		7				7
Céfi- pime		2			2				
C	3	2	3	1			1		10
AK		1	1						2
Tétrac- ycline				1					

Résumé

Résumé

L'infection bactérienne dans les unités de soins intensifs constitue de nos jours un problème de santé majeur à l'échelle mondiale. L'émergence d'un nombre croissant de bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques ne fait qu'augmenter les risques d'impasses thérapeutiques. Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries qui représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif.

Ce travail étude a été mené au niveau de l'unité de bactériologie de l'établissement public hospitalier (EPH) El khroub (Mohamed Boudiaf) Constantine, il s'agit d'une étude rétrospective menée sur 1 an et demi (du 01 janvier 2021 au 31 mars 2022) et d'une étude prospective menée sur 2 mois (du 5 avril au 5 juin 2022) dont les objectifs étaient : l'identification des souches d'entérobactéries isolées à partir de différents prélèvements et la détermination du profil de la résistance de ces bactéries vis-à-vis de 23 antibiotiques par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé.

D'après les résultats de cette étude, l'infection à entérobactéries est plus fréquente chez les femmes que chez les hommes (sex-ratio F/H = 1,59). Sur un total de 143 prélèvements différents, les espèces les plus fréquemment isolées étaient : *Escherichia coli* (38%), suivi par *Klebsiella sp.* (22%), *Proteus sp.* (14%), *Enterobacter sp.* (10%), *Morganella morganii* (10%), *Serratia sp.* (4%) et enfin *Citrobacter sp.* et *Providencia sp.* (1%). L'étude du profil de résistance des entérobactéries a montré qu'elles sont dotées pour la plupart d'entre elles d'une haute résistance vis-à-vis des bêta-lactamines et les céphalosporines de première génération. Cependant le chloramphénicol, conserve un bon profil d'activité antibactérienne.

Les résultats de cette étude témoignent d'une augmentation inquiétante de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries. Ceci impose une prescription rationnelle des antibiotiques, une amélioration de l'hygiène hospitalière ainsi qu'une surveillance continue de l'évolution de la résistance bactérienne.

Mots clés : infection, entérobactérie, *E. coli*, identification, résistance aux antibiotiques.

Abstract

Abstract

Bacterial infection in intensive care units is now a major global health problem. The emergence of an increasing number of bacteria resistant to one or more antibiotics only increases the risk of therapeutic impasses. Among the germs responsible for bacterial infections, enterobacteria are one of the main families of Gram-negative bacilli.

This study was conducted at the level of the bacteriology unit of the public hospital establishment (EPH) El khroub (Mohamed Boudiaf) Constantine, it is a retrospective study conducted over 1 year and a half (from 01 January 2021 to 31 March 2022) and a two-month prospective study (April 5 to June 5, 2022) whose objectives were: the identification of enterobacteria strains isolated from different samples and the determination of the resistance profile of these bacteria to 23 antibiotics by the method of diffusion of the discs in a agar medium.

Based on the results of this study, enterobacteria infection is more common in women than in men (sex-ratio F/H = 1.59). Of a total of 143 different samples, the most frequently isolated species were: *Escherichia coli* (38%), followed by *Klebsiella sp.* (22%), *Proteus sp.* (14%), *Enterobacter sp.* (10%), *Morganella morganii* (10%), *Serratia sp.* (4%) and finally *Citrobacter sp.* and *Providencia sp.* (1%). The study of the resistance profile of enterobacteria has shown that for the most part they have a high resistance to beta-lactams and first generation cephalosporins. However chloramphenicol, retains a good profile of antibacterial activity.

The results of this study indicate a worrying increase in antibiotic resistance in enterobacteria. This requires a rational prescription of antibiotics, an improvement in hospital hygiene and a continuous monitoring of the evolution of bacterial resistance.

Keywords: infection, enterobacteria, *E. coli*, identification, antibiotic resistance

ملخص

أصبحت العدوى البكتيرية في وحدات العناية المركزة الآن مشكلة صحية عالمية رئيسية. يؤدي ظهور عدد متزايد من البكتيريا المقاومة لواحد أو أكثر من المضادات الحيوية إلى زيادة خطر حدوث مآزق علاجية. من بين الجراثيم المسؤولة عن الالتهابات البكتيرية، تعد البكتيريا المعوية واحدة من العائلات الرئيسية لعصوية سلبية الغرام.

أجريت هذه الدراسة على مستوى وحدة علم الجراثيم في مؤسسة المستشفى العام (EPH) الخروب (محمد بوضياف) قسنطينة، وهي دراسة بأثر رجعي أجريت على مدى عام ونصف (من 1 يناير 2021 إلى 31 مارس 2022) ودراسة مستقبلية لمدة شهرين (من 5 أبريل إلى 5 يونيو 2022) أهدافها تحديد سلالات البكتيريا المعوية المعزولة من عينات مختلفة وتحديد ملف مقاومة هذه البكتيريا بطول 23 مضادًا حيويًا بطريقة نشر الأقراص في وسط أغار.

بناءً على نتائج هذه الدراسة، فإن عدوى البكتيريا المعوية أكثر شيوعًا لدى النساء منها لدى الرجال (نسبة الجنس $F/H = 1.59$). من بين ما مجموعه 143 عينة مختلفة، كانت الأنواع الأكثر عزلة هي: *الإشريكية القولونية* (38%)، تليها *كليبسيلا* (22% sp.)، *بروتيويس* (14% sp.)، *Enterobacter sp.* (10%)، *Morganella morganii* (10%)، *Serratia sp.* أظهرت دراسة ملف مقاومة البكتيريا المعوية أنه في الغالب لديهم مقاومة عالية لبيتا لاكتام والجيل الأول من السيفالوسبورينات. ومع ذلك، يحتفظ الكلورامفينيكول بمظهر جيد للنشاط المضاد للبكتيريا.

تشير نتائج هذه الدراسة إلى زيادة مقلقة في مقاومة المضادات الحيوية في البكتيريا المعوية. يتطلب هذا وصفة طبية عقلانية للمضادات الحيوية، وتحسين النظافة في المستشفى ومراقبة مستمرة لتطور مقاومة البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: العدوى، البكتيريا المعوية، *الإشريكية القولونية*، التعرف، مقاومة المضادات الحيوية.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : MADDI Safa Nourhane
MENASRA Lamia

Les infections à entérobactéries et leurs antibiorésistances au niveau de l'EPH d'El khroub, Constantine

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie et hygiène hospitalière

Résumé

L'infection bactérienne dans les unités de soins intensifs constitue de nos jours un problème de santé majeur à l'échelle mondiale. L'émergence d'un nombre croissant de bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques ne fait qu'augmenter les risques d'impasses thérapeutiques. Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries qui représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif.

Ce travail étude a été mené au niveau de l'unité de bactériologie de l'établissement public hospitalier (EPH) El khroub (Mohamed Boudiaf) Constantine, il s'agit d'une étude rétrospective menée sur 1 an et demi (du 01 janvier 2021 au 31 mars 2022) et d'une étude prospective menée sur 2 mois (du 5 avril au 5 juin 2022) dont les objectifs étaient : l'identification des souches d'entérobactéries isolées à partir de différents prélèvements et la détermination du profil de la résistance de ces bactéries vis-à-vis de 23 antibiotiques par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé.

D'après les résultats de cette étude, l'infection à entérobactéries est plus fréquente chez les femmes que chez les hommes (sex-ratio F/H = 1,59). Sur un total de 143 prélèvements différents, les espèces les plus fréquemment isolées étaient : *Escherichia coli* (38%), suivi par *Klebsiella sp.* (22%), *Proteus sp.* (14%), *Enterobacter sp.* (10%), *Morganella morganii* (10%), *Serratia sp.* (4%) et enfin *Citrobacter sp.* et *Providencia sp.* (1%). L'étude du profil de résistance des entérobactéries a montré qu'elles sont dotées pour la plupart d'entre elles d'une haute résistance vis-à-vis des bêta-lactamines et les céphalosporines de première génération. Cependant le chloramphénicol, conserve un bon profil d'activité antibactérienne.

Les résultats de cette étude témoignent d'une augmentation inquiétante de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries. Ceci impose une prescription rationnelle des antibiotiques, une amélioration de l'hygiène hospitalière ainsi qu'une surveillance continue de l'évolution de la résistance bactérienne.

Mots-clefs : infection, entérobactérie, *E. coli*, identification, résistance aux antibiotiques.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Bactériologie de l'EPH el khroub Mohamed Boudiaf Constantine.

Encadreur : Dr. CHENTLI. A (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1: Dr. BATAICHE. I (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Dr. OUIBRAHIM. A (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

