

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière

Par : BOUZERAA Amina
BERRIHIL Hadia

Thème

***Bactériologie des Entérobactéries isolées au niveau du
Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régional
Universitaire de Constantine (HMRUC)***

Soutenu le: 02 -07 -2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^r. BENLABED. K (Professeur – CHU Constantine)

Rapporteur: M^{me}. ZITOUNI. H (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

Examineur: M^{me} KHELILI K. (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

Maitre de stage : M^r. GUIT OUALID (Maitre-assistant – HMRUC Constantine)

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2017-2018

Remerciements

*Avent tout, nous remercions le grand **Dieu** le tout puissant qui nous a donné la force, le courage, la santé et de nous avoir permis d'arrivera ce stade-là. Et nous voulions qu'il soit fait purement pour son visage.*

Ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier en ces quelques lignes.

*Nous remercions très singulièrement notre encadreur Dr. **ZITOUNI Hind** maître de conférences à l'Université des Frères Mentouri de Constantine .pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous remercions également notre maitre de stage Dr. **GUIT Oualid**, pour nous avoir accueillies dans son équipe et d'avoir accepté de co-encadrer ce travail. Sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses qualités humaines nous ont profondément touchées.*

*A Dr. **KHELILI Kouatar** Maître de conférences B, enseignante au département de Biologie Appliquée. Pour avoir accepté d'Examiner ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier profondément les membres du jury, Docteur **BENLABED Kadour** qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.*

*On remercie Mr **KACEM CHAOUCHE N** chef du département de Biologie Appliquée qui nous a acceptées parmi ses étudiants en master.*

*Ainsi à tous le personnel du laboratoire de Microbiologie et du service de Réanimation pour toute l'aide qu'ils nous ont apportés lors de la réalisation de ce travail, en particulier : **Mr KHMISSE S.** médecin biologiste à l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine et **Mr BELBEKOUCHE Toufik** et **Kamel, M^{me} Dalila, Karima** et **Lamia** des techniciens à l'hôpital militaire.*

Enfin nous remercierons toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Amina & Hadia

Dédicaces

Je tien a dédié modeste travail à tous ceux qui m'ont encouragé durant toutes mes études

A mon très cher père :

«*Hachemi* »

Je te dis merci papa pour tout ce que tu as fait pour moi et mes frères et sœurs pour nous encourager dans les études financièrement avec la grâce de Dieu et moralement.

A ma très chère mère :

«*Djamila* »

Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale.

A mes chères sœurs :

«*Karima* », son mari «*Abd El-Hadi* » et ses fils «*Riad et Eyad* »

«*Nadia* » et son mari «*Nour Elyakine* »

La plus jeune fille de la famille «*Yousra* »

A mes chers frères :

«*Amar*», sa femme «*Houda*» et son fils «*Akrem*»

«*Idris* » et «*Bilal* »

A tous mes tantes et oncles, je cité en particulier

Nabil et Djamel

A mes cousins et cousines particulièrement :

«*Chahinaz*», «*Manel*», «*Nadjeh*», «*Rania*» et «*Djihane*»

«*Djad* » «*Charef Eddin*», «*Wadie*», «*Oussama*», «*Riad*», «*Ahcen*» et «*Toufik*»

Je dédie ce travail aussi

A mes chères amies : «Selma», «Ahlam», «Faiza», «Ilham», «Fatima», «Amina»,

«Halima», «Sara» et «Sabah»

A tous mes collègues : « A, I, L, S, M, W, O, R, »

A mes amis de Master MHH : « H, A, R, Z, M, K, L, S, N »

Surtout à ma binôme : BERRIHIL Hadia

Dédicace spéciale :

A mon maître de primaire, BOUZERAA Abd El-wahab

Amina

Dédicaces

Du plus Profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers

A mes chers merveilleux parents SAÏDA et ZOUBIR

Aucune dédicace ne serait exprimer mon respect. Vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi

Aucun mot ne saurait décrire mon immense amour, ma gratitude et ma profonde considération pour tous les sacrifices que vous avez consenti à mon égard, mon instruction et mon bien être pour tous vos encouragements tout au cours de ces années

*Je vous remercie pour le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vœux tant formulés
Puisse dieu vous accorder santé bonheur et longue vie.*

A ma chère tante NADJIA. Toutes les paroles ne parviendraient jamais à exprimer tout l'amour que je te porte. Tu es pour moi comme une deuxième maman ; ta patience, ton encouragement ont été pour moi le gage de la réussite. J'espère que je réalise aujourd'hui un de tes rêves et que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et un témoignage de ma profonde affection.

A ma chère sœur DOUHA, petite fleur dans mon cœur.

*A mon frère NADIR à qui je dis merci pour tout ce qu'il m'a appris.
A mon chère petit frère MINOU que dieu le protège.*

*A ma grande Mère maternelle que dieu lui accorde une longue vie.
A mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines.*

A mon binôme AMINA avec laquelle j'ai partagé de très bons moments à l'hôpital et à l'université.

A tous mes amis et mes camarades de promo 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.

HADIA

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur les entérobactéries.....	2
I.1. Historique	2
I.2. Définition.....	2
I.3. Classification	3
I.4. Habitat	4
I.5. Caractères bactériologiques.....	4
I.5.1. Caractères morphologiques	4
I.5.2. Caractères cultureux	4
I.5.3. Caractères biochimiques.....	5
I.5.4. Caractères antigéniques	5
II. Entérobactéries en médecine	6
II.1. Entérobactéries pathogènes	6
II.1.1. Pathogènes opportunistes	6
II.1.2. Pathogènes spécifiques:.....	6
II.2. Facteurs de virulence	6
II.3. Infections dues aux entérobactéries.....	7
II.3.1. Infections communautaires.....	7
II.3.2. Infections nosocomiales	7
III. Antibiotiques utilisés en réanimation contre les entérobactéries	10
III.1. Généralités sur les antibiotiques	10
III.1.1. Historique	10
III.1.2. Définition.....	11
III.1.3. Classification	11
III.1.4. Cibles bactériennes.....	12
III.1.5. Association des antibiotiques	13
III.2. Principaux antibiotiques utilisés et leurs mode d'action	13
III.2.1. β -lactamines.....	13
III.2.2. Aminosides ou aminoglycosides	14
III.2.3. Quinolones/ Fluoroquinolones	14
III.2.4. Divers antibiotiques.....	14
IV. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques	15
IV.1. Notions de l'antibiorésistance	15
IV.1.1. Résistance naturelle	15
IV.1.2. Résistance acquise	15
IV.1.3. Résistance croisée et Co-résistance	16
IV.2. Mécanismes de la résistance acquise chez les entérobactéries.....	16
IV.2.1. Résistance acquise aux β -lactamines.....	17
IV.2.2. Résistance acquise aux aminosides	18
IV.2.3. Résistance acquise aux quinolones.....	19
IV.2.4. Résistance acquise à la fosfomycine	19

Matériel et méthodes

I. Durée et lieu de l'étude	20
II. Prélèvements	20
III. Méthodes	20
III.1. Analyse cyto bactériologique	20
III.1.1. Urine	20
III.1.2. Hémoculture	21
III.1.3. Cathéter.....	22
III.1.4. PDP.....	22
III.1.5. Pus et liquides de ponction.....	23
III.2. Identification bactérienne:	25
III.2.1. Appréciation macroscopique:	25
III.2.2. Examen microscopique:	25
III.2.3. Identification biochimique après culture	26
III.3. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »	27
III.4. Test complémentaire.....	29
III.5. Analyse statistique	29

Résultats et discussion

I. Identification bactérienne	30
I.1. L'aspect macroscopique	30
I.2. Aspect microscopique.....	30
I.3. Identification biochimique des souches.....	31
II. Détermination du profil d'antibiorésistance	34
III. Analyse statistique	37
III.1. Répartition des prélèvements selon la tranche d'âge.....	37
III.2. Répartition des prélèvements selon le sexe	37
III.3. Répartition globale des infections aux entérobactéries en réanimation.....	38
III.3.1. Répartition des résultats selon la nature du germe	39
III.3.2. Répartitions globales des entérobactéries en fonction des types de prélèvement.....	40
III.3.3. Répartition des espèces d'entérobactéries en fonction des types de prélèvements.....	41
III.4. Profil de résistance des entérobactéries aux antibiotiques.....	43
III.4.1. Profil de résistance de <i>Escherichia coli</i>	44
III.4.2. Profil de résistance de <i>Klebsiella sp.</i>	46
III.4.3. Profil de résistance de <i>Enterobacter sp.</i>	49
III.4.4. Profil de résistance de <i>Proteus sp.</i>	50
III.4.5. Profil de résistance de <i>Serratia marcescens</i>	52
III.4.6. Profil de résistance de <i>Morganella morganii</i>	53
III.4.7. Evaluation de résistance des espèces d'entérobactéries isolées vis-à-vis des antibiotiques testés.....	53
Conclusion	54
Références bibliographiques	55

Résumés**Annexes**

AC	: Acide Clavulanique
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
ADH	: Arginine déshydrogénase
ATB	: Antibiotique
BLSE	: Béta-lactamase à spectre Elargi ou Etendu
C1G	: Céphalosporine de première génération
C2G	: Céphalosporine de deuxième génération
C3G	: Céphalosporine de troisième génération
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
ECBU	: Examen Cytobactériologique des Urines
FQ	: Fluoroquinolones
GN	: Gélose Nutritive
GSC	: Gélose au sang cuit
H₂S	: Sulfure d'hydrogène
HK	: Hektoen
I	: Intermédiaire
IN	: Infection nosocomiale
IUN	: Infection urinaire nosocomiale
KT	: Cathéter
LDC	: Lysine-Décarboxylase
LPS	: Lipopolysaccharide
°C	: Degrés Celsius
PAVM	: Pneumopathie Acquise sous Ventilation Mécanique
PDP	: Prélèvement Distale Protégé
PN	: Poly nucléaires
PNAVM	: Pneumopathie Nosocomial Acquise sous Ventilation Mécanique
Sp.	: Espèce
TDA	: Tryptophane Désaminase
UFC	: Unité formant une colonie
VP	: Vosges-Proskaue

Tableau 01: Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries.....	3
Tableau 02: Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine.....	3
Tableau 03: Principales familles d'antibiotiques.....	11
Tableau 04: Principales résistances naturelles chez les entérobactéries.....	17
Tableau 05: Phénotypes des entérobactéries aux β -lactamines.....	18
Tableau 06: Phénotypes de résistance des entérobactéries aux aminosides	19
Tableau 07: Phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones	19
Tableau 08: Caractères biochimiques des souches d'entérobactéries isolées	33
Tableau 09: Profil de la sensibilité aux antibiotiques de <i>E. coli</i>	35
Tableau 10: Profil de la sensibilité aux antibiotiques de <i>S. marcescences</i>	35
Tableau 11: Profil de la sensibilité aux antibiotiques de <i>Klebsiella sp.</i>	36
Tableau 12: Répartition globale des prélèvements positifs aux entérobactéries selon la tranche d'âge	37
Tableau 13 : Répartition globale des populations étudiées selon le sexe	37
Tableau 14: Répartition globale des prélèvements en réanimation	38
Tableau 15 : Répartition globales des germes isolés dans le service de réanimation	39
Tableau 16: Répartition globale des entérobactéries selon la nature du prélèvement	40
Tableau 17: Répartition des espèces entérobactéries selon la nature du prélèvement	41
Tableau 18: Taux des souches à BLSE des entérobactéries isolées	43
Tableau 19: Résistance de <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques testés	44
Tableau 20: Résistance de <i>Klebsiella sp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	46
Tableau 21: Résistance de <i>Enterobacter sp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	49
Tableau 22: Résistance de <i>Proteus sp.</i> aux antibiotiques testés	50
Tableau 23: Résistance de <i>Serratia marcescens</i> aux antibiotiques testé	52

Figure 01 : Chronologie de la découverte des antibiotiques et dates d'identification de souches résistantes correspondantes.....	10
Figure 02 : Cibles des différentes classes d'antibiotiques.....	12
Figure 03: Principaux mécanismes de la résistance des bactéries aux antibiotiques	17
Figure 04: Aspect macroscopique des colonies de <i>K. pneumoniae</i> (a), et <i>E. coli</i> (b) sur gélose nutritive	30
Figure 05: Colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur milieu Hektoen	30
Figure 06: Observation microscopique des bacilles à l'état frais.....	31
Figure 07: Observation microscopique après coloration de Gram.....	31
Figure 08: Fiche de résultat de la galerie API 20 E.....	32
Figure 09: Caractères biochimiques de la bactérie <i>E. coli</i> par la galerie rapide (a) et par la galerie API 20E (b).....	33
Figure 10: Caractères biochimiques de la bactérie <i>K. pneumoniae</i> par la galerie rapide (a) et par la galerie API 20E (b).....	33
Figure 11: Antibiogramme d' <i>E. coli</i>	34
Figure 12: Antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i>	34
Figure 13: Moyennes des cas positifs selon la tranche d'âge	37
Figure 14: Répartition globale des échantillons selon le sexe	38
Figure 15: Répartition globale des résultats positifs et négatifs	38
Figure 16: Répartition globale des souches isolées dans le service de réanimation	39
Figure 17: Répartition globale des entérobactéries selon la nature de prélèvements	40
Figure 18: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements sanguins	41
Figure 19: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements urinaires	42
Figure 20: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements distaux protégés	42
Figure 21: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements de pus	42
Figure 22: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements des liquides de ponction	42
Figure 23: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements de cathéters.....	42
Figure 24: Taux de chaque espèce d'entérobactéries durant la période	43
Figure 25: Taux des souches à BLSE +	44
Figures 26 : Taux de résistance des souches de <i>Escherichia coli</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés.....	45
Figure 27: Evaluation de la résistance de <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques testés	46
Figure 28: Taux de résistance de <i>Klebsiella spp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	47
Figure 29: Evolution de la résistance de <i>Klebsiella sp.</i> aux antibiotiques testés	48
Figure 30: Taux de résistance de <i>Enterobacter cloacae</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	49
Figure 31 : Taux de résistance de <i>Proteus sp.</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	51
Figure 32: Taux de résistance de <i>Serratia marcescens</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	52
Figure 33: Histogramme de comparaison de la résistance de l'ensemble des espèces étudiées vis-à-vis des antibiotiques testés	53

Introduction

L'hôpital peut constituer une source majeure d'infection. Le surpeuplement, les fréquents transferts des patients d'un service à l'autre et la concentration dans un même secteur, de patients hautement vulnérables à l'infection tels que : les nouveau-nés, les brûlés ou les patients en unités de soins intensifs, favorisent la multiplication et la propagation des germes.

D'autre part, la dissémination des bactéries résistantes aux agents antimicrobiens est à l'origine d'un problème d'importance dans le domaine médical, car, elle réduit notablement les possibilités thérapeutiques et se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de la morbidité et parfois de la mortalité, ainsi que des coûts d'hospitalisation.

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...

Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente des mécanismes de résistance aux antibiotiques, expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (**VERHAGEN J., 2002**).

Par ailleurs, en bactériologie médicale, il en est une notion relative de leur pathogénicité, car de part le fait que ces germes fassent partie de la flore commensale aérobie de notre tube digestif et possèdent différents mécanismes de résistance, la concentration importante de ces germes dans le tube digestif, favorise l'échange et la dissémination des gènes de résistance (**Machado E., et al 2013**)

Dans ces conditions, la connaissance de la fréquence des infections nosocomiales et communautaires dues aux entérobactéries, ainsi que la détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques, représentent un atout majeur pour mettre en jeu des méthodes de prévention d'efficacité prouvée.

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude effectuée à l'hôpital Militaire de Constantine dans l'Unité de Microbiologie et Parasitologie du laboratoire central de Biologie.

Les principaux objectifs de cette étude sont :

- ✓ L'isolement et l'identification des entérobactéries les plus fréquemment retrouvées dans des prélèvements provenant du service de réanimation.
- ✓ La détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques par antibiogramme.

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les entérobactéries

Les entérobactéries ou (*Enterobacteriaceae*) constituent une famille bactérienne hétérogène très importante, qui regroupe plus d'une quarantaine de genres et de 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 ou sont étroitement associées aux plantes chez lesquelles elles peuvent déterminer des altérations nuisibles dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique mais aussi sont des agents causaux responsable d'infections communautaires et nosocomiales (**PILLY E., 2013**).

I.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 J. et al., 2000**).

I.2. Définition

Les entérobactéries sont des bacilles ou coccobacilles à Gram négatif. Mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles. Ils sont aéro- anaérobies facultatifs et se développent sur milieu ordinaire (à l'exception des *salmonelles* et *shigelles*).

Ne formant pas de spores. Elles sont dépourvues d'oxydase et ont la faculté d'acidifier le glucose par voie fermentative avec ou sans production de gaz, et aussi de réduire les nitrates en nitrites (sauf quelques *Erwinia*). Elles sont à catalase positif (sauf *Shigella dysenteriae serovar 1*) (**GUIRAUD P. J., 2012** et **AVRIL L., et al., 2000**).

I.3. Classification

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 J., et al.,2000).

Tableau 01: Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries (BOONE D. R., 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>

Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 Genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (PILETC., 1979)

Tableau 02: Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquentes en clinique Humaine (PERRIERE G., 1992).

	Tribu	Genre	Espèces
Groupe 1	<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Selmonella</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 cloaceae</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>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>

I.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 rencontrée dans d'autres sites du corps.

Dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10% de la flore totale (**GUIRAUD P. J., 2012**).

Cette localisation digestive n'est pas exclusive. Les entérobactéries sont également retrouvées dans l'environnement (sol, eau...), sur les végétaux. Certaines ont un pouvoir phytopathogène ou participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement (**CABONNELLE B., et al., 1987**).

I.5. Caractères bactériologiques

I.5.1. Caractères morphologiques

Les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique de type bacilles à Gram négatif de 2 à 4 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large. Généralement polymorphes, de nombreuses espèces sont mobiles grâce à une ciliature péritriche, la longueur des flagelles dépend des conditions de culture, elle peut atteindre 20 μ m et la longueur d'onde des ondulations 2,3 μ m. D'autres sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*). La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez les *Klebsiella* (**BONNET R., 2006**). La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion. Certains genres sont thermodépendants et ne poussent pas à 37°C tels que: *Hafnia alvie* et *Yersinia enterocolitica* (**CRISTIAN C., 2008**).

I.5.2. Caractères culturaux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobie et en anaérobie. La culture est également possible entre 20 et 40°C sur milieux gélosés. On distingue les formes de colonies suivantes: (**FRENEY J.,etal., 2000 et AVRIL L.,et al., 2000**).

- **Formes S (smooth):** sont l'aspect habituel a 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.
- **Colonies naines:** s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. Elles ne sont pas exceptionnelles chez les *E. coli* isolés d'infections urinaires.

I.5.3. Caractères biochimiques

L'identification des *Enterobacteriaceae* repose sur l'étude des caractères essentiellement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose etc..), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz (**Annexe 01**) (**KASSAMA M., et HAMADI S., 2013**).

I.5.4. Caractères antigéniques

La détermination du sérotype peut être entreprise uniquement pour des souches dont l'identification est certaine. Toute autre façon de faire ne peut qu'entraîner des erreurs du fait d'agglutinations croisées non spécifiques (**AVRIL L., 2000**).

Antigènes O: ce sont des endotoxines des bactéries à Gram négatif. Ils sont composés de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables, résistent à l'alcool ou l'acide et très toxiques.

Antigènes K : ces antigènes capsulaires sont de nature polysaccharidique qui entoure la paroi de certaines entérobactéries. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B des *E.coli*, des *Shigelles* et l'antigène Vi de certaines *Salmonella* ou *Citrobacter*.

Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O. Ils sont détruits par une ébullition de deux heures. Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili communs encore appelées fimbriae sont classés parmi les antigènes K (K88, K99).

Antigènes H: ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont pas toxiques. Ils ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine (flagelline), ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. Les réactions d'agglutination se produisent rapidement, et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation.

Antigène Kunitz (Ou antigène Enterobacterial Common Antigen): cet antigène commun aux *Enterobacteriaceae* n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique. Sa présence chez les *Yersinia* a permis d'inclure ce genre dans la famille des entérobactéries.

II. Entérobactéries en médecine

II.1. Entérobactéries pathogènes

Elles sont de 2 types :

II.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 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.

II.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*.

II.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* (*Shigella like*), 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.

II.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 E., 2013**).

Elles induisent un risque de complications sévères pour d'autres maladies. Leurs ports 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 S., 2009**).

II.3.1. Infections communautaires

Les infections communautaires à entérobactéries sont dues essentiellement à *E. coli*, *Proteus* et *Klebsiella pneumoniae*. Certaines infections communautaires ont une incubation supérieure à 48 heures (comme la légionellose...) (**Collège national des enseignants de réanimation médicale, 2005**).

II.3.2. Infections nosocomiales

Une infection nosocomiale (IN) est une infection survenant plus de 48 heures après l'admission et qui n'était ni présente, ni en incubation dans cette période. Les services les plus concernés sont: le service de réanimation (20%), service des brûlés, service du Chirurgical, service d'hématologie et service de long séjour (**BRICAIRE L., et BRICAIRE F., 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 A., et MACHUT A., 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,...).

Les infections nosocomiales, les plus fréquemment rencontrées sont: les pneumopathies nosocomiales, les infections urinaires, les infections liées aux cathéters veineux, et les infections de site opératoire (MARCO L., 2007).

1. La pneumopathie nosocomiale (PN): est un problème de santé publique qui concerne tous les services hospitaliers représentant, la deuxième localisation d'infection nosocomiale et la première en réanimation (ARIKA A., *et al.*, 2015). Elle correspond à toute pneumonie survenant chez un malade dont la respiration est assistée par une machine soit de manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal ou d'une trachéotomie soit de manière non invasive par l'intermédiaire d'un masque facial dans les 4 premiers jours de l'hospitalisation.

Elles sont rencontrées chez les sujets immunodéprimés, âgés ou fragiles (broncho pneumopathie chronique, éthyliste), hospitalisés notamment pour cancers, leucémies, transplantations d'organe, comas... La cause de ces pneumonies est des bactéries à Gram négatif (60% des cas): *K.pneumoniae*, *E.coli*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter sp.*, *P.aeruginosa*. La pneumonie à *K.pneumonia* réalisant généralement un tableau sévère, avec expectoration « rouillée » ou hémorragique avec opacité alvéolaire à la radiographie et évolution fréquente vers l'abcédation (DELMEEE M., 2004 et PILLY E., 2013).

La plupart des patients de réanimation nécessitent le recours à la ventilation mécanique invasive et donc la pneumopathie acquise de ces ventilations (PAVM) est définie par une pneumopathie infectieuse nosocomiale développée dans un délai ≥ 48 h après l'intubation et la ventilation mécanique. Elle représente la première cause de mortalité due à une infection nosocomiale en réanimation (MALAJATI B., *et al.*, 2012).

Le principal facteur de risque d'acquisition d'une (PNAVM) est la présence de la sonde d'intubation endotrachéal (NASIRIANI K., *et al.*, 2016). La durée et l'usage d'équipements de ventilation assistée mal désinfectés est également considérée comme un des facteurs de risque de pneumopathie nosocomiale (RICARD J. D., 2007).

2. L'infection urinaire (IU) est la plus fréquente des infections nosocomiales. Elle représente toujours la deuxième cause d'infection acquise en réanimation après les pneumopathies nosocomiales et elle est l'agression d'un tissu par un (ou plusieurs) micro-organisme, en terme global elle est définie par la présence anormale de germes dans l'urine. Elle regroupe à la fois la colonisation ou bactériurie asymptomatique et l'infection du tractus urinaire symptomatique qui génère une réponse inflammatoire et des signes de nature et d'intensité variables selon le terrain (**CABROLIER N., et BERTRAND X., 2014; ALFANDARI A., 2003; VINCENT J. L., et al., 1995**).

La plupart des infections urinaires comme: cystites, pyélonéphrites ou prostatites sont dues à la propagation par voie ascendante des bactéries d'origine intestinale d'où la prédominance des entérobactéries au sein desquels: *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*) et *Klebsiella* (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) qui comptent pour environ 4% chacune et *Entérobacter sp.*

Escherichia coli est le plus souvent mis en cause ($\geq 80\%$) (**PILLY E., 2013**). Le risque de survenue d'une infection urinaire nosocomiale (IUN) est relativement stable dans les quatre premiers jours puis augmente de façon très significative de 5% par jour de sondage.

Est dite nosocomiale lorsqu'elle est acquise dans une structure de soins ou d'une manière plus générale reliée à la prise en charge du patient (**MARTINE B. L. et HENRY B., 1997**).

3. Les infections digestives: Se caractérisent par l'association d'une fièvre avec un syndrome diarrhéique au cours de salmonelloses, ou un syndrome dysentérique au cours de shigelloses. *E. coli* est à l'origine de tableau diarrhéique dont le mécanisme est variable: toxinique entéro-invasif dont *E. coli* de type O157: H7 a été décrite comme cause de syndrome hémolytique et urémique; plus particulièrement chez l'enfant, après l'ingestion d'aliments contaminés.

On trouve aussi d'autres infections comme les méningites, les arthrites et spondylodiscites souvent secondaires à une bactériémie et les entérobactéries colonisant facilement les plaies et les ulcérations chroniques. Chez le diabétique, elles peuvent contribuer aux surinfections d'un mal perforant plantaire (**PILLY E., 2013**).

III. Antibiotiques utilisés en réanimation contre les entérobactéries

III.1. Généralités sur les antibiotiques

III.1.1.1. Historique

- Dès 1877, **Pasteur** et **Joubert** mettent en évidence la notion d'antagonisme microbien (antibiose) : des cultures de bactéries charbonneuses poussent mal lorsqu'elles sont souillées par certaines bactéries saprophytes.
- En 1912, **Vandenner** montra que les extraits obtenus à partir de *Aspergillus fumigatus* avaient une activité anti-staphylococcique.
- En 1928A, **Fleming** découvre la pénicilline G.
- En 1935 les sulfamides sont découverts.
- Entre 1938 et 1942, la pénicilline G est purifiée et utilisée en clinique par **H. Florey** et **E. Chain**.
- En 1940, le terme d'antibiotique a été proposé par **R. Dubos**. **Waksman** isole l'actinomycine produite par une *Streptomyces* et il découvre la streptomycine active en particulier sur le bacille de Koch.
- A partir de cette date, de nombreux antibiotiques sont découverts : Chloramphénicol, Tétracyclines en 1949, Aminoglycosides en 1950, Macrolides en 1952, Glycopeptides en 1958, Streptogramines en 1962, Triméthoprime en 1970 et Oxazolidinones en 2000 (**RAMDANI B. N., et al., 2009**).

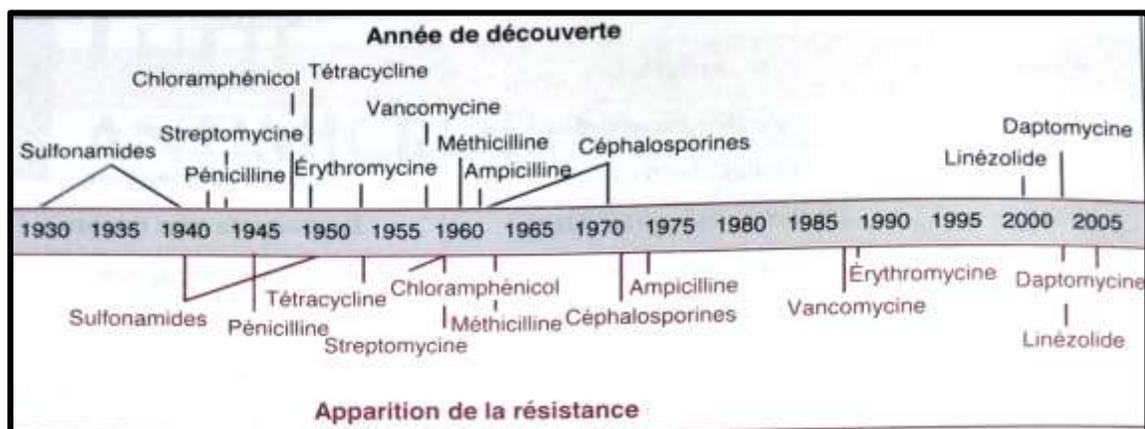


Figure 01: Chronologie de la découverte des antibiotiques et dates d'identification de souches résistantes correspondantes (**PAOLOZZI L., et LIEBART J. C., 2015**).

III.1.2. Définition

Le terme d'**antibiose** crée par **Vuillemin** (France) en **1889** pour décrire une situation dans laquelle un micro-organisme en détruit un autre (**PAOLOZZI L., et LIEBART J. C., 2015**).

Les antibiotiques (Du grec **anti**: « contre », et **bios**: « la vie ») sont des substances élaborées par des micro-organismes (procaryotes ou eucaryotes) ou obtenues à l'heure actuelle par synthèse ou hémisynthèse et capables d'inhiber la multiplication (action bactériostatique) ou de tuer d'autres micro-organismes (action bactéricide) (**TALBERT M., WILLOQUET G., et GERVAIS R., 2015**).

III.1.3. Classification

Pour mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on procède à leur classification selon certains critères: (**TALBERT M., WILLOQUET G., et GERVAIS R., 2015**).

- Les antibiotiques ayant une même structure chimique, à l'origine de leur mécanisme d'action se classent dans une même famille
- Au sein d'une même famille, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes
- Au sein d'un même groupe, l'activité antibactérienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leurs propriétés pharmacologiques ou leur tolérance
- Peuvent être aussi classés selon l'origine de la molécule : naturelle, synthétique ou semi synthétique (**RAMDANI B. N., et al., 2009**).

Tableau 03: Principales familles d'antibiotiques (**PAOLOZZI L., et LIEBART J. C., 2015**).

Familles	Caractéristiques chimiques	Sous familles
β-lactamines	Cycle à 4, 5 ou 6 atomes de C avec un –NH fixé au C- β	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, monobactames
Glycopeptides	Heptapeptide cyclique liant un sucre (mannose, glucosamine ou glucose)	Téicoplanine, vancosamine, vancomycine
Tétracyclines	Noyau naphtacène-carboxamidetétracyclique lié à des substituants en position 5, 6, 7	
Macrolides et apparentés	Anneau macrolactonique modifié par un ou plusieurs sucres	
Phénicolés	Dérivés de l'acide dichloroacétique et d'un phénylsubstitué	Chloramphénicoles, thiamphénicoles
Aminosides	Aminocyclitol, lié à 2 ou rarement 3 oses	Streptomycine

Ansamycines	2 cycles aromatiques liés par une longue chaîne constituée d'un aminocyclitol auquel sont liés des oses	Rifampycine, rifamycine, rifabutine
Sulfamides	Para-aminobenzène sulfamide	
Triméthoprime	diaminopyrimide	Inhibiteur compétitif la dihydrofolate-réductase
Polymyxines	Antibiotiques peptidiques cycliques	Polymyxines B et E

III.1.4. Cibles bactériennes

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanisme d'action. Ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé « site d'action »: (TALBERT M., WILLOQUET G., et GERVAIS R., 2015).

- ❖ **La paroi**: inhibition de synthèse de la paroi bactérienne (β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine)
- ❖ **La membrane cytoplasmique**: inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines)
- ❖ **Le chromosome**: inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones)
- ❖ **Le ribosome**: inhibition de la synthèse protéique (cycline, aminosides, macrolides)

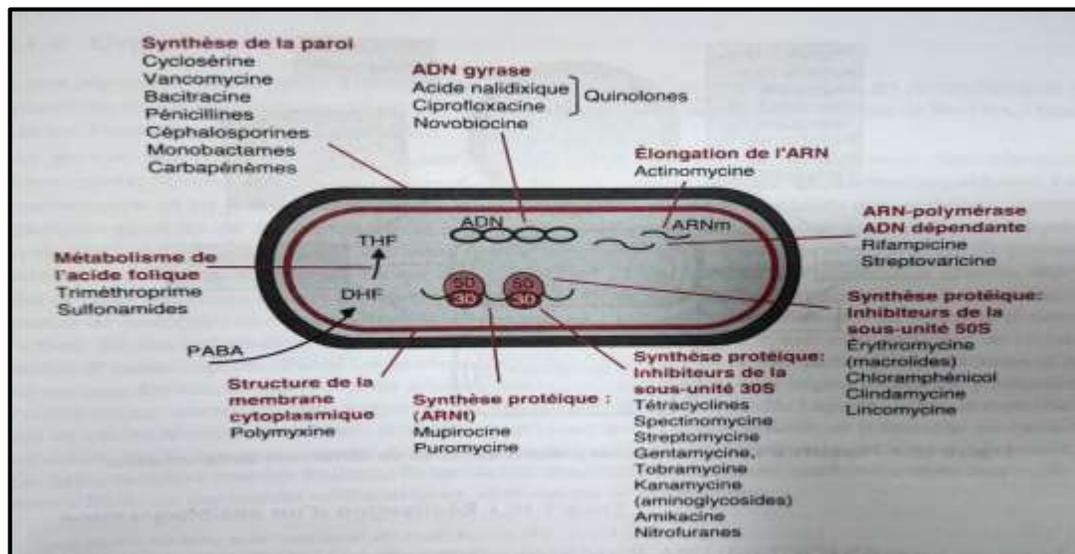


Figure 02: Cibles des différentes classes d'antibiotiques (PAOLOZZI L., et LIEBART J. C., 2015).

III.1.5. Association des antibiotiques

Dans des situations cliniques, l'association de deux antibiotiques ayant des sites d'action distincts sur la bactérie permet d'obtenir une meilleure efficacité thérapeutique. On peut distinguer quatre effets de l'association: (COURVALIN P., LECLERCQ R., et BINGEN E., 2006).

- ✓ **Effet de synergie** ; l'effet est significativement supérieur à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration, comme la synergie des associations β -lactamines et aminosides.
- ✓ **Effet additif** ; l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration que dans l'association.
- ✓ **Effet différent** ; l'activité de l'un des antibiotiques n'est pas affectée par la présence de l'autre.
- ✓ **Effet d'antagonisme** ; l'association diminue l'activité de l'un ou l'autre des antibiotiques comme l'association des tétracyclines avec une β -lactamine ou avec un aminoside.

III.2. Principaux antibiotiques utilisés et leurs mode d'action

III.2.1. β -lactamines

Ce sont des antibiotiques caractérisés par la structure de base : le noyau β -lactame, elles sont subdivisées en 4 groupes majeurs: (RAMDANI B. N., *et al.*, 2009).

- ❖ **Les pénames**: principalement les pénicillines (ampicilline et dérivés, Ticarcilline, ...), et Oxapénames (Acide clavulanique, AC + Amoxicilline, AC + Ticarcilline).
- ❖ **Les céphèmes**; comprennent principalement les céphalosporines, qui classés en 4 générations (C1G, C2G, C3G et C4G)
- ❖ **Les pénèmes**: Carbapénèmes (Imipénème) sont des ATBs à large spectre.
- ❖ **Les β -lactamines monobactames**: Monobactames et Aztéréonam actifs particulièrement sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Les β -lactamines agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne, le cycle β -lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme qui est responsable de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane et causé son inactivation (LAGHA N., 2015).

III.2.2. Aminosides ou aminoglycosides

Ces antibiotiques sont bactéricides à large spectre, en association avec d'autres familles d'antibiotiques plus souvent aux β -lactamines (effet synergique). Ils sont actifs sur *Staphylocoque* méti-S et les bacilles Gram négatif aérobies (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Ils agissent sur la synthèse protéique des bactéries en se fixant sur la sous unité 30S du ribosome (ADJA N., 2005).

III.2.3. 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⁻ (DELMEEE M., 2004).

Dans les années 80, la fluoration de ces molécules en position 6 a donnée naissance à des Fluoroquinolones. (TALBERT M., WILLOQUET G., et GERVAIS R., 2015).

III.2.4. Divers antibiotiques

➤ Fosfomycine

C'est un antibiotique bactéricide à large spectre, actif sur la plupart des *Enterobacteriaceae* et sur les *Staphylocoques*. Il agit au début de la synthèse du peptidoglycane aux chaînes glucidiques. Il se fixe de manière covalente sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétyl-muramique (ADJA N., 2005).

➤ Triméthoprime-Sulfaméthoxazole

C'est un antibiotique bactéricide résulte de l'association des sulfamides et les triméthoprimes qu'ils sont des antimétabolites qui entrent en compétition avec les substrats naturels dans la synthèse des folates (l'inhibition la synthèse de l'ADN); les deux sont des analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque (PAB) et dihydrofolate (DHF), respectivement. Donc sont des inhibiteurs compétitifs des deux enzymes dihydroptéroate synthèse (DHPS) et dihydrofolate réductase (DHFR) (GAUDY C., et BUXERAUD J., 2005).

➤ Chloramphénicol

Cet antibiotique a un effet bactériostatique sur la plupart des espèces bactériennes. Leur mode d'action est l'inhibition la synthèse protéique par fixation réversible au site A du ribosome (COURVALIN P., LECLERCQ R., & BINGEN E., 2006).

IV. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

L'efficacité des antibiotiques utilisés dans le traitement des infections causées par les *Enterobacteriaceae* dépend de la quantité d'antibiotique au contact de la cible, l'affinité de l'antibiotique pour la cible et la production d'enzyme inactivant l'antibiotique. Ces facteurs sont responsables soit d'une résistance naturelle, soit d'une résistance acquise (**COURVALINP., LECLERCQ R., et BINGEN E., 2005**).

IV.1. Notions de l'antibiorésistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques a rapidement constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. Elle repose sur deux définitions; une souche est résistante lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notamment plus élevée que la concentration atteignable *in-vivo* ; ou une souche supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres bactéries de la même espèce (**QASSIMI L., 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:

IV.1.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est une caractéristique propre qui existe naturellement chez l'ensemble des souches d'une espèce ou d'un genre bactérien, elle détermine les phénotypes «sauvages» des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques. Elle est stable, et toujours transmissible à la descendance, car portée par un chromosome (**ADJA N., 2005**).

IV.1.2. Résistance acquise

C'est une résistance qui résulte d'une modification génétique par mutation ou par l'acquisition de matériel génétique étranger. C'est une caractéristique de certaines souches au sein de l'espèce considérée. La reconnaissance des résistances acquises permet la détermination des phénotypes «résistants» (**GAUDY C., et BUXERAUD J., 2005**).

Cette résistance survient chez des bactéries qui étaient au départ sensibles à l'antibiotique car elles font partie de son spectre d'action. Cette acquisition résulte de deux mécanismes génétiques:

- ❖ **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 (**TALBERT M., WILLOQUET G., et GERVAIS R., 2015 et RAMDANI B. N., et al., 2009**).
- ❖ **Résistance extra-chromosomique :** Le support peut être un plasmide, un transposon ou un intégron acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction, ou transformation. Cette résistance est multiple (elle peut conférer à la bactérie la résistance à plusieurs antibiotiques d'une même famille ou de familles différentes) et transférable entre bactéries de la même espèce ou de genres différents.

IV.1.3. Résistance croisée et Co-résistance

La résistance croisée résulte d'un seul mécanisme biochimique et concerne des antibiotiques appartenant à la même famille

La Co-résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistances impliquées) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles (**SEKHR A. N., 2011**).

IV.2. Mécanismes de la résistance acquise chez les entérobactéries

Pour bien comprendre les résistances acquises, il est très important de bien connaître les résistances naturelles des différentes espèces bactériennes et le support génétique de la résistance (les caractères de résistance portée par des gènes qui sont situés sur chromosome ou sur plasmide) (**GAUDY C., et BUXERAUD J., 2005**).

Généralement, le nombre de mécanismes de la résistance bactérienne aux médicaments antimicrobiens est limité ; car le nombre de modes d'action des antibiotiques est limité. La figure ci-dessous illustre les quatre principaux mécanismes:

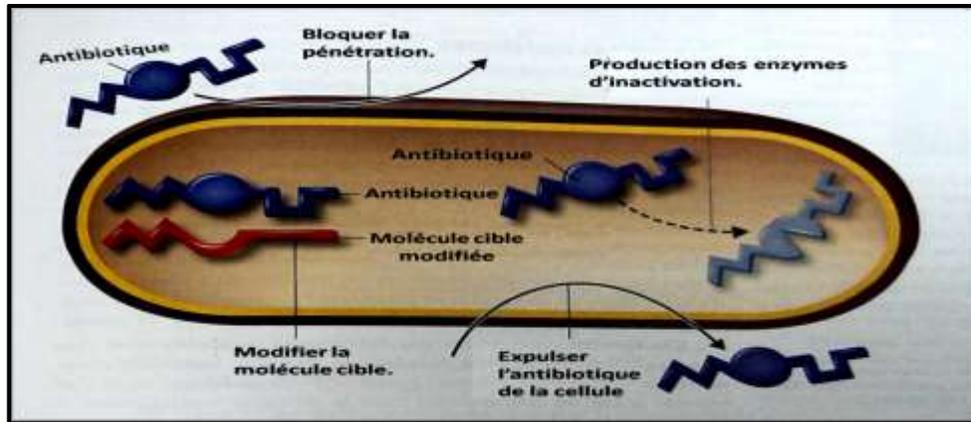


Figure 03: Principaux mécanismes de la résistance des bactéries aux antibiotiques (TORTORA G., J., FUNKE B., R., et CASE C., L., 2012)

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux nombreux antibiotiques par différents mécanismes (tableau 04).

Tableau 04: Principales résistances naturelles chez les entérobactéries (GAUDY et BUXERAUD, 2005)

Mécanismes		Antibiotiques	Entérobactéries
Enzymatique	Pénicillinases	Aminopénicillines Carboxypénicillines Urédopénicillines	Groupe II
	Céphalosporinases inductibles	Aminopénicillines C1G	Groupe III
	Acétyltransférases	Aminosides	<i>Serratia, Providencia</i>
Défaut de pénétration		Pénicilline M et G Macrolides Rifampicine Acide Fusique Glycopeptides Aminosides	Toutes Anaérobies
Défaut d'affinité		Aztéréonam Cefsulodine	Anaérobies Toutes

IV.2.1. Résistance acquise aux β -lactamines

Les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines: (LAGHA N., 2015).

- ✓ **Diminution de la perméabilité** par l'altération des porines par mutation, ce qui a été décrits chez *E. coli* en 1980. Et plus rare, la disparition de porine provoque l'augmentation des CMI de certaines β -lactamines (chez *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *E. coli*...)
- ✓ **Hyperproduction de systèmes d'efflux**: qui impliqué dans la résistance aux β -lactamines a été identifiée en particulier chez *K. pneumoniae*. Ce type de mécanisme touchant préférentiellement la Céfoxitine et les C2G. semble difficile à distinguer du point de vue phénotypique des résistances par modification des porines.
- ✓ **Modification des protéines liée aux pénicillines (PLP)**: peut avoir lieu par des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les PLPs ou par l'acquisition de gènes étrangers codants pour nouveaux PLPs ayant une affinité différente aux β -lactamines.
- ✓ **Production de β -lactamases**: qui est le mécanisme prédominant de résistance acquise des entérobactéries aux β -lactamines. On peut individualiser six phénotypes de résistance aux β -lactamines.

Tableau 05: Phénotypes des entérobactéries aux β -lactamines (FAUCHERE J. L., 1997).

Phénotypes	AMX	AMC	TIC	Mécilline	Cétalotine	Ceftazidime
Pénicillinase bas niveau	R	S	R	S	S	S
Pénicillinase haut niveau	R	I/R	R	R	R	S
Pénicillinase résistante aux IβL	R	R	R	R	S	S
Céphalosporinase inductible	R	R	S	S	R	S
Céphalosporinase déréprimée	R	R	R	S	R	R
BLSE	R	R	R	R	R	R

AMX: Amoxicilline, AMC: Amoxicilline + Acide clavulanique, TIC: Ticarcilline, I β L: inhibiteurs de β -lactamines, BLSE : β -lactamase à spectre étendu. R: Résistant, S: Sensible, I: Intermédiaire

Les BLSE sont des enzymes qui hydrolysent l'ensemble des pénicillines et les céphalosporines. Les premières BLSE dérivait des pénicillinases par mutation ponctuelle. Elles ont été mises en évidence la première fois en Allemagne et en France en 1984 (DIALLO A. A., 2013).

IV.2.2. Résistance acquise 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 desgroupements aminés (NH₂), respectivement. Ces enzymes sont majoritairement codées par des gènes portés sur des plasmides. On peut distinguer 9 phénotypes de résistance principaux (FAUCHERE J. L., 1997).

Tableau 06 : Phénotypes de résistance des entérobactéries aux aminosides.

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

IV.2.3. Résistance acquise aux quinolones

La résistance aux quinolones est principalement à des mutations chromosomiques, elles sont dues à la diminution d'accumulation intracellulaire de l'antibiotique par imperméabilité et/ou à un système d'efflux actif ou à la diminution d'affinité de l'antibiotique pour sa cible qu'est l'ADN gyrase et topoisomérase IV. Ces mutations ponctuelles, responsables du phénotype de résistance de haut niveau aux fluoroquinolones (COURVALINP., LECLERCQ R., et BINGEN E., 2005).

On trouve aussi trois différents mécanismes de résistance plasmidique qui ont été impliqués ; la protection de la cible due aux protéines, l'inactivation enzymatique due à l'acétyltransférase et l'efflux actif médié par les pompes. On peut individualiser 4 phénotypes de résistance aux quinolones (FAUCHERE J. L., 1997).

Tableau 07 : Phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones.

Marqueurs	NalS	NalR	PefR	CipR
Acides Nalidixique	S	R	R	R
Péfloxacin	S	S	R	R
Ciprofloxacine	S	S	S	R

IV.2.4. Résistance acquise à la fosfomycine

La résistance acquise par mutation chromosomique est responsable le plus souvent d'une modification des systèmes de transport et plus rarement d'une modification de l'enzyme cible (GAUDY C., et BUXERAUD J., 2005).

Matériel et méthodes

I. Durée et lieu de l'étude

Le travail expérimental relatif à ce mémoire d'une durée de 4 mois a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie à l'unité de microbiologie et parasitologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) «COMMANDO BENBAATOUCHE ABDELALI». Les prélèvements ont été effectués au niveau du service de réanimation. Les prélèvements traités sont : le pus, l'urine, le sang, prélèvement à partir des cathéters, liquides de ponction (liquide cérébraux spinale (LCS), liquide articulaire, liquide d'ascite), prélèvement à partir d'une sonde vésicale, prélèvement distale protégé (PDP).

Il consiste en:

- L'isolement et l'identification des entérobactéries les plus fréquemment retrouvées dans des prélèvements provenant du service de réanimation.
- La détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques par antibiogramme.

II. Prélèvements

Au cours des 4 mois du stage, 117 prélèvements provenant du service de réanimation ont été analysés au niveau du laboratoire de microbiologie dans différentes paillasses.

Ces prélèvements sont accompagnés d'une fiche qui comporte les renseignements suivants (nom et prénom du patient, âge et sexe, origine du prélèvement (service), nature du prélèvement, signes cliniques et traitement antibiotique administré) (**Annexe 02**). Parmi ces prélèvements un total de 25 souches d'entérobactéries est trouvé : *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens*.

III. Méthodes

La recherche des entérobactéries dépend de la nature du prélèvement traité.

III.1. Analyse cytobactériologique

III.1.1. Urine

Il existe les cas suivants :

- **Patient non sondé** : le prélèvement se fait par recueil des urines de la première miction le matin, après une désinfection locale, et au milieu du jet dans un pot stérile.
- **Patient sondé** : une désinfection du point de ponction sur la sonde est effectuée avec un antiseptique suivie d'une ponction de 5 à 10 ml d'urine à travers l'opercule.

Technique:**1^{er} jour:**

- ✓ **Appréciation macroscopique** : clair, trouble, hématique.
- ✓ **Examen microscopique** : La numération cellulaire permet l'orientation du diagnostic. c'est une étape très importante dans l'ECBU. La numération se fait sur les cellules de Nageotte. Le but de cet examen est le dénombrement des leucocytes, des polynucléaires, recherche des hématies, des cellules épithéliales, levures, cristaux et présence ou absence de bactéries.
- ✓ **Mise en culture**
 - Homogénéiser le prélèvement d'urine.
 - Ensemencer l'urine sur les boîtes de GN et CLED (Déficiente en Electrolyte, Lactose et Cystine) selon la méthode des 4 quadrants.
 - Incuber à 37°C /18 à 24h

2^{ème} jour: La lecture des boîtes (**Annexe 03**).

III.1.2.Hémoculture

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.

Technique :

1^{er} 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 Chocolat et Hektoen. Incuber à 37°C 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 réincubés
- ✓ Si le résultat est positif : le germe sera identifié + antibiogramme.
 - ✓ Si le résultat est négatif : on conclura avec une absence de germes.

NB: Dans le cas de brucellose ou bien endocardite (*streptocoque*), le flacon est incubé à 37°C pendant 1mois.

III.1.3. Cathéter

L'insertion d'une partie des cathéters (KT) à travers la peau, expose ces dispositifs à un risque de colonisation par des microorganismes de la flore cutanée résidente, pouvant déboucher sur une infection. Le cathéter (centrale/périphérique) à analyser est découpé sur une longueur de 5 cm et mis dans un tube stérile, qui sera ensuite transporté au laboratoire.

Technique:

1^{er} jour: Ajouter 1ml d'eau physiologique dans le tube de KT, bien agiter puis faire des dilutions en eau physiologique 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} à partir de chaque dilution, ensemercer 2 gouttes sur Gélose nutritif, Chocolat, Hektoen, Chapman et Gélose au sang (4 quadrants). Incuber les boîtes à 37°C 18-24 h.

2^{ème} jour : Effectuer une 1^{ère} lecture à 24 heures :

- ✓ Si la culture est négative : ré-incuber les boîtes pendant 48 heures
- ✓ Si la culture est positive : compter le nombre de colonies identiques /boîtes :
 - Si la numération $<10^3$ UFC/ml (0 colonies, boîte de 10^{-3} , < 10 col, boîte de 10^{-2}), ne pas faire d'identification et d'antibiogramme.
 - Si la numération $>10^3$ UFC/ml (≥ 1 colonie, 10^{-3} , ≥ 10 col 10^{-2})

3^{ème} jour : lecture des boîtes réincubées

- ✓ Si la culture est négative, donner le résultat : numération bactérienne $<10^3$ UFC/ml
- ✓ Si la culture est positive, on procède à l'identification de 2^{ème} jour.

III.1.4. PDP

Ce prélèvement est réservé aux malades intubés en service de réanimation, les sécrétions bronchiques sont aspirées avec un double cathéter protégé introduit dans l'arbre trachéo-bronchique puis placés dans un tube stérile.

Technique:

1^{er} jour:

***Appréciation macroscopique:** clair, trouble, purulent ou hémorragique.

***Centrifugation du prélèvement** (si injection d'eau physiologique): jeter le surnageant, le culot servira pour l'examen direct et la culture.

***Examen microscopique:** A partir du prélèvement (ou du culot), prélever une parcelle purulente, et l'étaler d'une façon homogène sur une lame propre, laisser sécher, puis fixer le frottis

et colorer au bleu de méthylène. La lecture au microscope optique X 100: numération de PN/champ, noter l'absence ou la présence de bactéries (forme, disposition et abondance)

***Mise en culture :**

- ✓ Culture directe : à partir du prélèvement ou du culot, ensemercer sur les milieux : Chocolat, Gélose Nutritif et Hektoen.
- ✓ Culture après dilution : réaliser des dilutions du prélèvement en eau physiologique de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

A partir de chaque dilution ensemercer les boîtes : 02 gouttes à étaler en 4 quadrants. Incuber les boîtes à 37° sous CO₂.

2^{ème} jour: lecture et interprétation

- ✓ Si la culture est négative: réincuber les boîtes jusqu'à 48 heures.
- ✓ Si la culture est positive: compter le nombre de colonies identiques dans chaque boîte correspondant aux dilutions 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} (nombre de colonies **X** inverse de la dilution **X** 10 = nombre UFC / ml).
- Si le nombre > 10^3 UFC/ ml : identifier le germe + antibiogramme
- Si le nombre < 10^3 UFC, répondre : une numération bactérienne < 10^3 UFC/ ml (ne pas procéder à une identification et un antibiogramme)
- Si la flore microbienne est polymorphe, discuter l'éventualité d'identifier des bactéries, pathogènes dont le seuil est > 10^3 .

3^{ème} jour: Lecture des boîtes réincubées

- ✓ Si la culture est négative: résultat: numération bactérienne < 10^3 UFC / ml.
- ✓ Si la culture est positive: procéder à la méthode d'identification de 2^{ème} jour.

III.1.5.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 péritonéal, liquide d'ascite, liquide péricardique, 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 cutané

muqueuse au niveau du site de ponction, il peut se faire également en per opératoire. La quantité doit être suffisante à 2 à 5 ml.

Les prélèvements sont recueillis dans 02 tubes :

- ✓ Un tube avec anticoagulant pour l'étude cytologique
- ✓ Un tube sec stérile pour la culture

Technique:

1^{er} jour:

***Appréciation macroscopique:** citrin, transparent, trouble ou purulent ou hémorragique.

***Examen microscopique:** Il se fait sur le liquide de contenu dans le tube avec anticoagulant

✓ Étude quantitative: numération des leucocytes / mm³ en cellules de Nageotte. Elle est impossible si le liquide est coagulé, et elle est difficile si le liquide est hémorragique.

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

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

***Mise en culture :**

✓ Bactéries aérobies: sur la Gélose nutritive et Chocolat, puis incubé à 37° en aérobiose sous CO₂.

✓ Bactéries anaérobies: sur gélose au sang frais préparé le jour même

✓ Et sur bouillon d'enrichissement qui sera incubé pendant 04 jours et jusqu'à 15 jours pour rechercher les germes exigeants, (ou 04 semaines, cas de Brucella).

2^{ème} jour: lecture des boîtes

✓ Si la culture est négative; réincuber les boîtes.

✓ Si la culture est positive; identifier le germe + antibiogramme.

3^{ème} jour: lecture des boîtes réincubées

✓ Si la culture négative; répondre: culture directe négative,

✓ si la culture positive; procéder la méthode l'identification de 2^{ème} jour.

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

La lecture des boîtes anaérobies se fait au 3^{ème} jour et 5^{ème} jour.

✓ Si la culture négative: absence de bactéries anaérobies

✓ Si la culture positive: identification + antibiogramme

Pour la recherche de Brucella : la culture sur Chocolat est incubée en aérobiose sous CO₂ pendant 48 heures à 04 jours.

III.2. Identification bactérienne:

Le diagnostic bactériologique est réalisé en plusieurs étapes :

III.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.

III.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 de 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.

Technique :

- Préparer un frottis sur une lame propre, le fixer à la chaleur et le recouvrir avec un colorant de violet de gentiane, pendant 1 minute.
- Fixer la première coloration par le lugol, laisser 1 minute.
- Rejeter le lugol, rincer 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, 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 04**.

III.2.3. Identification biochimique après culture

L'identification des caractères biochimiques est effectuée à l'aide de galeries biochimiques miniaturisées (API 20 E et galerie rapide one) + des tests complémentaires (test d'oxydase et test de catalase).

➤ Identification par les Galeries biochimiques miniaturisées

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

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.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.
- **Galerie rapide:** Remplir les cupules de la galerie par la suspension bactérienne et incubé à 37C° pendant 4 heures
- **Galerie API 20E:** Pour l'inoculation; il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne. Pour les autres tests, les tubes (et non les cupules) sont remplis avec la création d'une anaérobiose. Pour les tests: ADH, LDC, ODC, URE, H₂S les cupules sont remplies par l'huile de vaseline stérile. L'incubation se fait à 37 C° pendant 18-24 heures.

Lecture : Se fait selon un catalogue analytique (**Annexe 05**).

➤ **Test complémentaires de l'identification biochimique**

○ **Test à l'oxydase**

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.

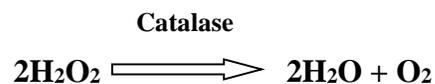
Cette recherche s'effectue sur un papier filtre d'oxydase prête à l'emploi ; imprégné de N-diméthyl paraphénylène diamine.

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

Lecture: La présence d'une cythochrome 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 négatif.

➤ **Test de catalase**

Il permet la détection de l'enzyme « catalase » qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Ce test s'effectue sur une lame porte objet propre.

Une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes) à l'aide d'une pipette Pasteur.

Lecture : La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène.

III.3. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »

La résistance des souches aux antibiotiques est testée par la méthode de diffusion en milieu gélose «Miller Hinton (MH)» ; 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.

Technique:

✓ **Milieux:** Gélose MH, coulée en boîtes de Pétri sur épaisseur de 4mm, et séchées.

Inoculum: A partir d'une culture pure de 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis le décharger dans 5 à 10 ml de l'eau physiologique ainsi bien homogénéiser la suspension.

✓ **Ensemencement:**

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum
- L'essorer en le passant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

✓ **Choix des antibiotiques :** les antibiotiques testés lors de la réalisation de l'antibiogramme des entérobactéries sont: Ampicilline (AMP), Amoxicilline (AMX), Amoxicilline-acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Pipéracilline (PRL), Céfazoline (CZ), Céfotaxime (CTX), Céftriaxone (CRO), Imipénème (IMP), Amikacine (AK), Gentamicine (GN), Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP), Colistine (CT), Triméthoprim-sulfaméthoxazole (SXT), Fosfomycine (FOS) et Chloramphénicol (C).

✓ **Application des disques d'antibiotiques**

- Les disques choisis sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.
- On dépose 6 ou 7 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm. Deux disques doivent être éloignés au minimum de 30 mm et une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque du bord de la boîte.

✓ **Incubation**

Laisser diffuser les disques après leur application à température ambiante pendant 15 min, puis incuber dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

✓ Lecture et interprétation de l'antibiogramme

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).

III.4. Test complémentaire

❖ Test de confirmation du double disque :

- A partir d'une culture pure de 18h, préparer une suspension d'une opacité égale à 0,5 Mc Ferland selon la technique de l'antibiogramme.
- On dépose un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération à une distance de 25 mm (centre à centre).
- Laisser diffuser les antibiotiques
- La boîte gélosée ensemencée sera déposée le couvercle vers le haut à la température ambiante pendant une heure.
- Après une heure d'incubation sur la paillasse, ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de céfotaxime.
- Incuber la boîte 24h à 37°C

Lecture : le test du double disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après diffusion du disque de l'AMC est supérieur ou égale à 0,5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporines de 3^{ème} génération.

III.5. Analyse statistique

L'étude statistique est réalisée à partir d'une étude rétrospective réalisée sur une période de 3 ans (2015-2016-2017) par des données obtenues des registres de réception au niveau du laboratoire. Un total de 171 souches d'entérobactéries est étudié. Une étude prospective réalisée sur une durée de 4 mois (Janvier 2018 à Avril 2018) a comporté 25 souches d'entérobactéries

Les résultats sont représentés par des tableaux, des camemberts, et des histogrammes

Résultats et discussion

I. Identification bactérienne

I.1. L'aspect macroscopique

* **Aspect des colonies** : A partir de différents prélèvements, l'isolement des souches sur les milieux ; chocolat, gélose au sang frais, Hektoen, Chapman et gélose nutritive 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 04: Aspect macroscopique des colonies sur gélose nutritive



Figure 05: Aspect macroscopique des Colonies sur milieu Hektoen

I.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 sont immobiles.

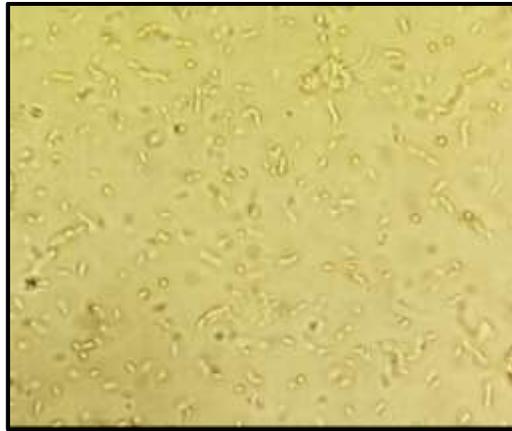


Figure 06: Observation microscopique des bacilles à l'état frais

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

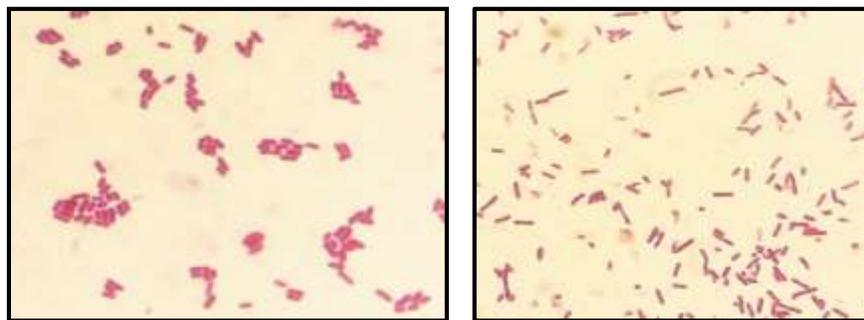


Figure 07: Observation microscopique après coloration de Gram

I.3. Identification biochimique des souches

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). La lecture est faite :

* Pour la **galerie API 20 E**: en se référant au tableau de lecture (**Annexe 05**). Si 3 tests ou plus sont positifs, noter sur la fiche de résultats (Figure 09) toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs. Mais, si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs est inférieur à 3:

- Réincuber la galerie 24h de plus sans rajouter les réactifs.
- Révéler les tests nécessitant l’addition de réactifs.
- Compléter l’identification, par détermination du profil numérique (7chiffres) qui obtenue sur la fiche de résultats, à partir des tests qui sont séparés par groupes trois : 1,2 ou 4 est indiquée pour chacun
- A l’aide du Catalogue Analytiques, rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

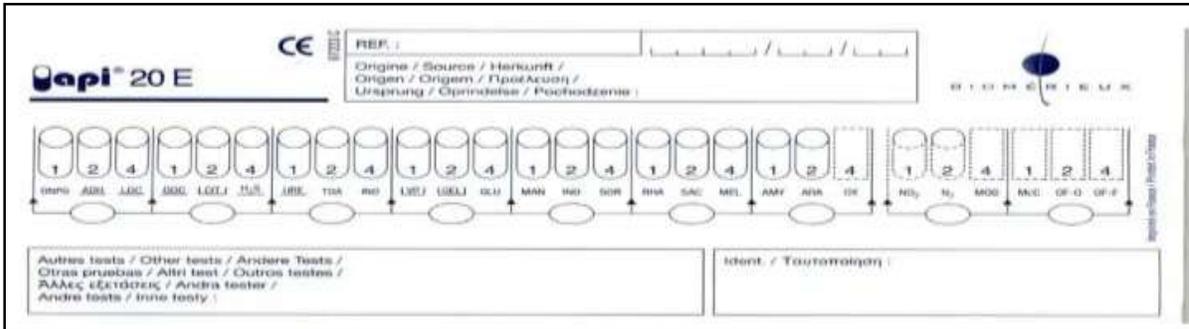


Figure 08: Fiche de résultat de la galerie API 20 E

* Pour la **galerie rapide one** : les tests sont interprétés avant l’ajout de réactif. Puis révéler les tests nécessitant l’addition de réactifs. De la même manière, nous obtenons d’un profil numérique sur la fiche de résultat (Figure 10). A l’aide du logiciel d’identification Rapid™ one; entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

Les résultats obtenus avec la galerie API 20 E et la galerie rapide™ one sont totalement identiques et sont représentés par le tableau ci-dessous.

D’après les différents tests nos résultats sont compatibles avec ceux d’autres auteurs (**Souna, 2011**) et confirment que nos souches sont pures.

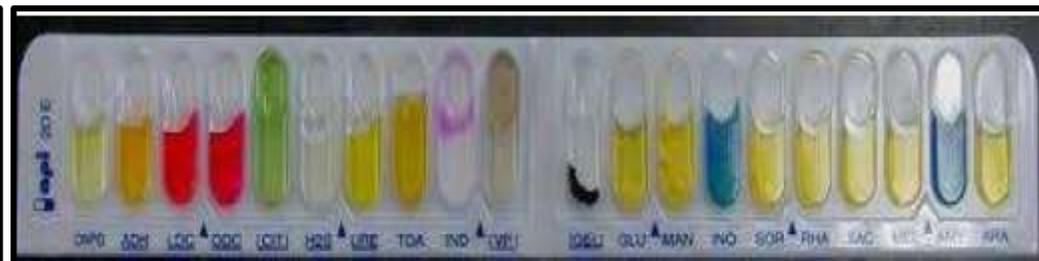
Tableau 08: Caractères biochimiques des souches d'entérobactéries isolées.

	ONPG	H ₂ S	LDC	ODC	ADH	Urée	TDA	Indole	Citrate	VP	Gaz	Glucose	Lactose	Mobilité
<i>E. coli</i>	+	-	v	V	v	-	-	+	-	-	v	+	+	+
<i>Klebsiella</i>	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Serratia</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	v	v

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



(a)



(b)

Figure 09: Caractères biochimiques de la bactérie *E. coli* par la galerie rapide (a) et par la galerie API 20E (b)



(a)



(b)

Figure 10: Caractères biochimiques de la bactérie *K. pneumoniae* par la galerie rapide (a) et par la galerie API 20E (b)

II. Détermination du profil d'antibiorésistance

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Les diamètres critiques sont définis pour chaque antibiotique par le Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés à l'aide d'une règle, puis ils sont comparés aux diamètres critiques rassemblés dans l'**annexe 06**. Il convient de noter toutefois sur une fiche de résultat d'antibiogramme (**Annexe 07**), qu'une souche dont la sensibilité aux antibiotiques est ainsi évaluée peut être déclarée " sensible (S), résistante (R), (I) intermédiaire"

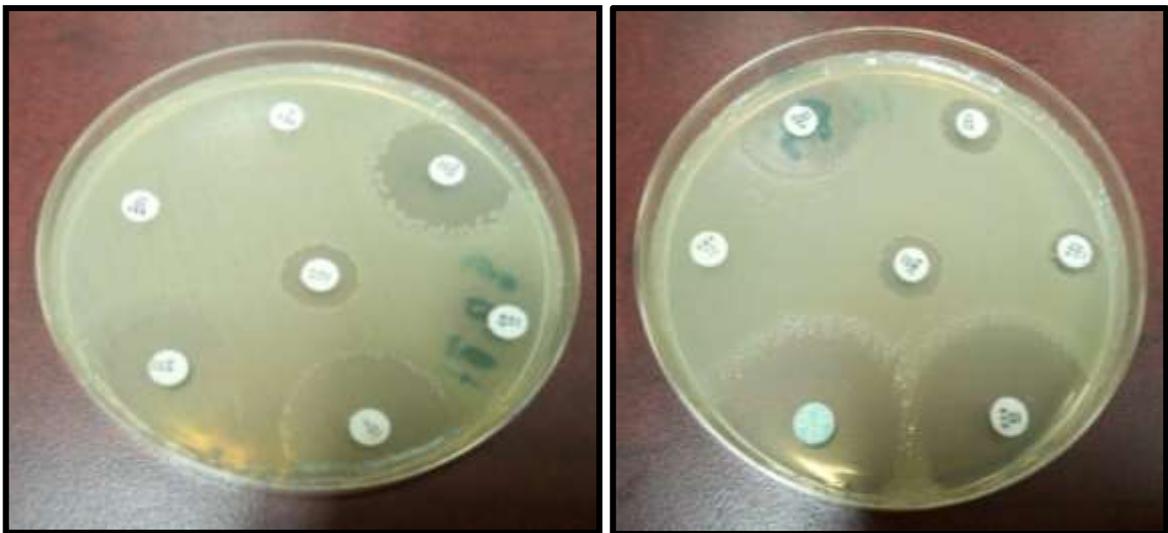


Figure 11: Antibiogramme de *E. coli*

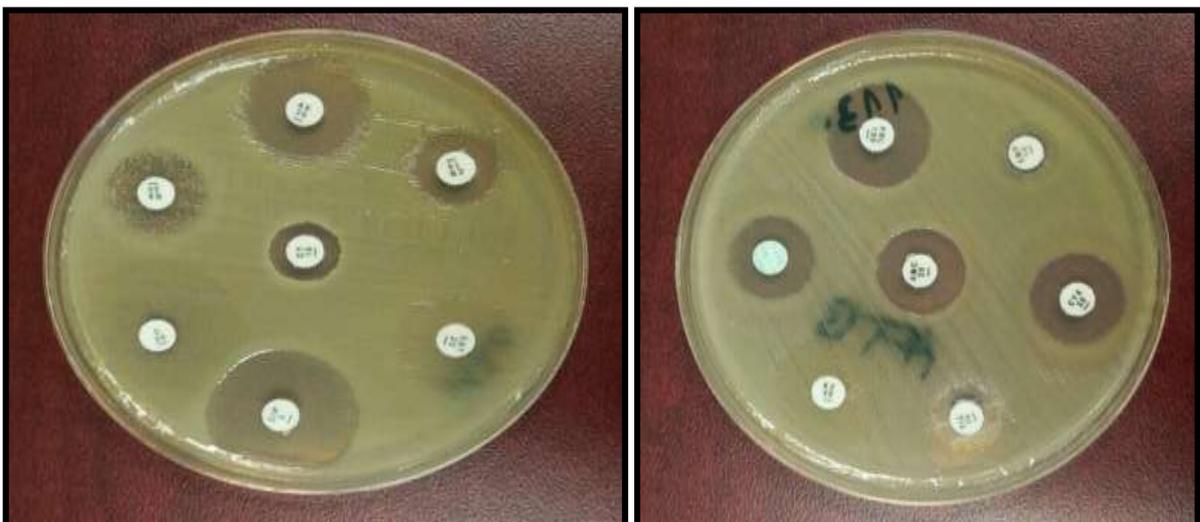


Figure 12: Antibiogramme de *K. pneumoniae*

Les résultats des antibiogrammes effectués pour les 25 souches sont illustrés dans les tableaux suivants :

Tableau 09: Profil de la sensibilité aux antibiotiques de *E. coli*

	Pénicillines					Céphalosporines			Carb.	Aminosides		Qn/Fqn			Divers		
	AMP	AMX	AMC	TIC	PRL	CZ	CTX	CRO	IMP	AN	GN	NA	OFX	CIP	CT	SXT	C
Hémoculture	R	R	R	R	R	R	R	R	S		R	R	S	S	S	S	S
	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S		S
Urine	R	R	R	R	R	R	R	R	S		R	R	R	R	S	R	S
	R	R	R	R	R	R	R	R	S		S	R	R	R	S	R	S

Carb : Carbapénèmes, **Qn** : Quinolones, **Fqn** : Fluoroquinolones, **R**: Résistant, **S**: Sensible.

Tableau 10: Profil de la sensibilité aux antibiotiques de *S. marcescences*

	Pénicillines					Céphalosporines			Carb.	Aminoside		Qn/Fqn			Divers	
	AMP	AMX	AMC	TIC	PRL	CZ	CTX	CRO	IMP	AN	GN	NA	OFX	CIP	CT	SXT
PDP	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S

Tableau 11: Profil de la sensibilité aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*.

	Pénicilline					Céphalosporine			Carb.	Aminoside		Qn/Fqn			Divers		
	AMP	AMX	AMC	TIC	PRL	CZ	CTX	CRO	IMP	AN	GN	NA	OFX	CIP	CT	SXT	C
Hémoculture	R	R	R	R	R	R	R	R	S		S	S	S	S	S	S	
	R	R	R	R	R	R	R	R		S	S	S	S	S	S	S	S
	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R
Urine	R	R	R	R	R	R	R	R		S	R	R			S	R	S
	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S		R	R	R	S		S
	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R		S	S	S	R	
	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R
	R	R	R		R	R	R	R	S		S	R	S	S	S		S
	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S		R
PDP	R	R	I	R	R	R	R	R	S		R	R	R	R	S	S	
	R	R	S	R	R	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S	S
	R	R	R	R	R	R	R	R	S		S	S	S		S	R	S
	R	R	R	R	R	R	R	R	S			S	S		S	R	S
	R	R	S	R	R	R	R	R			S	S	S	S	S	R	S
	R	R	R		R	R	R	R	S		S	R	S	S	S		S
Liquide	R	R	R	R	R	R	R	R			S	I	S	S	S	S	S
	R	R	R	R	R	R	S	S	S		S	R	S	S	S	S	S
KT	R	R	R	R	R	R	R	R	S			S	S	S	S	R	S
	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R

III. Analyse statistique

III.1. Répartition des prélèvements selon la tranche d'âge

Tableau 12: Répartition globale des prélèvements positifs aux entérobactéries selon la tranche d'âge

Tranche d'âge	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<10	4	5,63	4	9,76	1	2,08	1	4
11-20	1	1,41	3	7,32	4	8,33	4	16
21-40	11	15,49	12	29,27	18	37,5	7	28
41-60	22	30,98	9	21,95	11	22,92	9	36
> 60	33	46,49	13	31,70	14	29,17	4	16

J Janvier, D: Décembre, A : Avril, N: Nombre

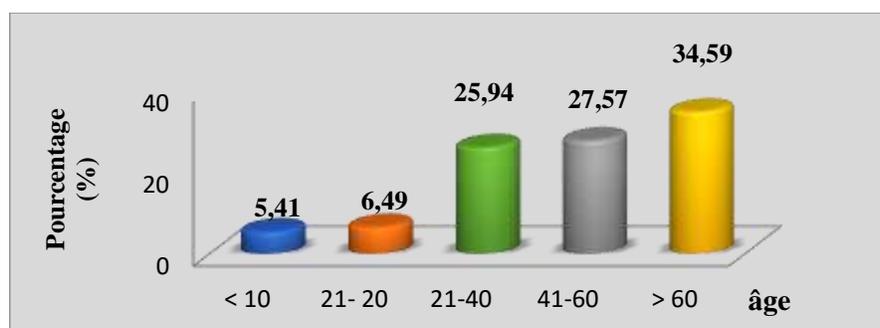


Figure 13: Moyennes des cas positifs selon la tranche d'âge

D'après le tableau et l'histogramme, le pourcentage des cas positifs aux entérobactéries le plus élevé (34,59%) est constaté avec la tranche d'âge plus de 60 ans. La fréquence de l'infection semble augmenter avec l'âge. Les facteurs intervenant dans l'augmentation de l'incidence des infections aux entérobactéries chez les personnes âgées sont multiples: Baisse des défenses immunitaires, alitement, effet des médicaments, déshydratation (particulièrement pour les infections urinaires), présence de beaucoup de dispositifs médicaux.

III.2. Répartition des prélèvements selon le sexe

Tableau 13: Répartition globale des populations selon le sexe

Sexe	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Hommes	36	49,295	29	70,731	27	56,25	10	40
Femmes	35	49,295	12	29,268	21	43,75	15	60

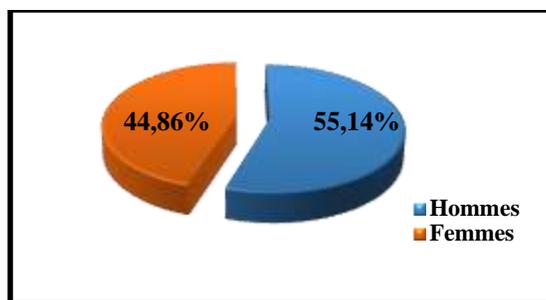


Figure 14: Répartition globale des échantillons selon le sexe

D'après les résultats, les infections aux entérobactéries au niveau du service de réanimation touchent plus la population masculine avec une fréquence de 55,14% (102/185) par rapport à la population féminine qui ne représente que 44,86% (83/185). Ceci correspond à un sexe ratio (Homme/Femme) = 1,22. Ces résultats sont expliqués par la prédominance des hommes au niveau du service et sont concordants avec ceux de **Ait Hadi et Boulghit (2016)** qui ont travaillé sur les infections aux entérobactéries chez les brûlés au niveau du service des grands brûlés de l'hôpital central de l'armée d'Alger.

III.3. Répartition globale des infections aux entérobactéries en réanimation

Tableau 14: Répartition globale des prélèvements en réanimation

Résultat	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Absence d'infection	213	46,8	156	46,4	100	35,2	49	25,4
Présence d'infection	218	47,9	157	47,7	148	52,1	61	31,6
Prélèvement à refaire	24	5,3	23	6,9	36	12,7	83	43

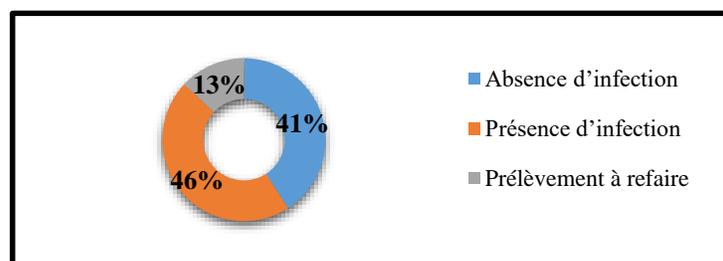


Figure 15: Répartition globale des résultats positifs et négatifs

Durant la période d'étude (Janvier 2015-Avril 2018), nous avons collecté 1268 résultats de prélèvements bactériologiques provenant de 185 patients hospitalisés au niveau du service de réanimation.

D'après les résultats, la fréquence des infections au niveau du service de réanimation est très élevée (46%). Ce résultat est expliqué particulièrement par le lieu d'hospitalisation. En effet, les patients hospitalisés en réanimation sont sujet à des dispositifs médicaux assez importants (Intubations, sondages, cathétérisme veineux central ...etc.). Par ailleurs, les patients sont en générale admis pour de longues durées, ce qui favorise la contraction des germes. D'autre part, il s'agit souvent de personnes dont les défenses immunitaires sont affaiblies.

III.3.1. Répartition des résultats selon la nature du germe

Sur les 584 prélèvements positifs, plusieurs bactéries ont été isolées : *Staphylocoques* (124), *Pseudomonas aeruginosa* (58), *Acinetobacter sp.* (123), Entérobactéries (196), *Streptocoque sp.* (14), Levures (48).

Tableau 15: Répartition globale des germes isolés dans le service de réanimation

Type bactérienne	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Staphylocoque sp.</i>	39	17,9	42	26,8	31	21,1	12	18
<i>Acinetobacter sp.</i>	40	18,3	36	22,9	30	20,4	17	25,37
<i>Entérocoque sp.</i>	6	2,8	3	1,9	5	3,4	9	13,43
<i>Pseudomonas sp.</i>	23	10,6	15	9,6	18	12,2	2	2,98
<i>Haemophilus sp.</i>	1	0,5	0	0	1	0,7	1	1,49
<i>Stréptocoque sp.</i>	8	3,6	4	2,54	1	0,7	1	1,49
Levures	27	12,4	10	6,4	11	7,4	0	0
<i>Entérobactérie sp.</i>	74	33,9	47	29,9	50	34,0	25	37,31

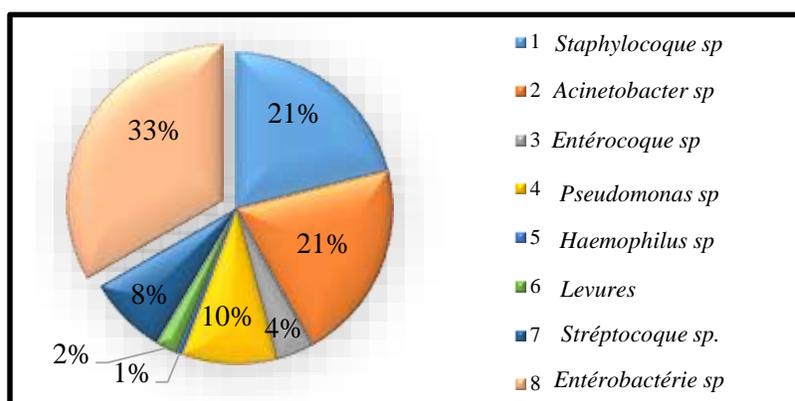


Figure 16: Répartition globale des souches isolées dans le service de réanimation

Les résultats montrent la prédominance des entérobactéries avec une fréquence de (33%), par rapport aux autres germes. Elles sont suivies par *Staphylocoques sp.* et *Acinetobacter sp.* avec (21%). Le pourcentage le plus faible est constaté avec *Haemophilus sp* (1%). Nos résultats sont concordants avec ceux obtenus dans une étude faite au Maroc en 2013 par **Essayegh** et son équipe qui ont trouvé que les entérobactéries prédominaient avec une fréquence d'isolement de (35,5%). Ils rejoignent également ceux de (**Souna et al., 2011**) qui a constaté la prédominance des entérobactéries avec un pourcentage plus élevé (55%).

III.3.2. Répartitions globales des entérobactéries en fonction des types de prélèvement

Tableau 16: Répartition globale des entérobactéries selon la nature du prélèvement

Type bactérienne	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
PV	2	2,7	0	0	0	0	0	0
Pus	9	12,2	10	21,3	5	10,4	0	0
PDP	21	28,4	11	23,4	12	18,8	7	28
KT	3	4	3	6,4	2	8,33	2	8
Liquides de ponction	2	2,7	2	4,3	1	0	2	8
Hémoculture	17	23	12	25,5	8	16,7	6	24
Urine	20	27	9	19,1	22	45,8	8	32

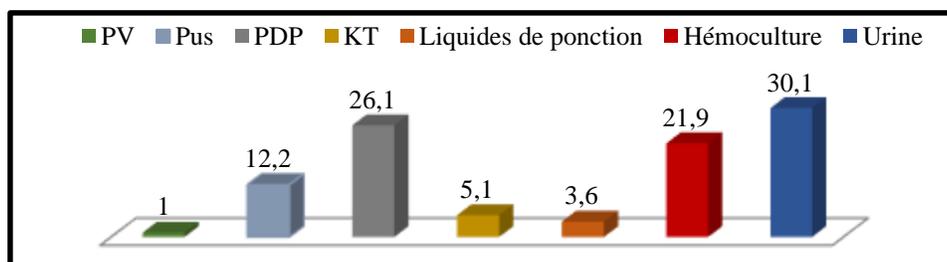


Figure17: Répartition globale des entérobactéries selon la nature de prélèvements.

Les résultats démontrent la prédominance des entérobactéries dans les prélèvements urinaires (30,1 %). Ils sont suivis par les prélèvements respiratoires (26,1%) (PDP prélèvements distaux protégés). Le résultat le moins important est constaté avec le prélèvement vaginal. Nos résultats sont en accord avec ceux de (**SEKHSOKH et al., 2008**) qui ont constaté que le site urinaire était le plus contaminé par les entérobactéries. Ce résultat est expliqué par la longue durée d'hospitalisation des patients avec des sondes urinaires qui favorise la dissémination des germes. La ventilation mécanique est aussi un facteur favorisant les infections respiratoires.

III.3.3. Répartition des espèces d'entérobactéries en fonction des types de prélèvements

Tableau 17: Répartition des espèces entérobactéries selon la nature du prélèvement

Type de prélèvement	Type bactérienne isolées	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Prélèvement vaginal	<i>E. coli</i>	1	1,4	0	0	0	0	0	0
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,4	0	0	0	0	0	0
Sang	<i>E.coli</i>	4	5,4	0	0	0	0	2	8
	<i>Klebsiella sp.</i>	7	9,4	10	21,27	5	10	4	16
	<i>Enterobacter sp.</i>	6	8,1	2	4,25	2	4	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0	1	2	0	0
Urine	<i>E.coli</i>	15	20,7	4	8,51	11	22	2	8
	<i>Klebsiella sp.</i>	4	5,4	3	6,38	5	10	6	24
	<i>Entérobacter sp.</i>	0	0	1	2,12	1	2	0	0
	<i>Serratia marsescens</i>	0	0	0	0	1	2	0	0
	<i>Proteus sp.</i>	1	1,3	1	2,12	4	8	0	0
PDP	<i>E. coli</i>	3	4,0	1	2,12	2	4	0	0
	<i>Klebsiella sp.</i>	13	17,5	5	10,63	8	16	6	24
	<i>Enterobacter sp.</i>	2	2,7	3	6,38	1	2	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	0	0	1	2,12	1	2	1	4
	<i>Proteus vilgaris</i>	1	1,3	0	0	0	0	0	0
	<i>Morganella morganii</i>	1	1,3	0	0	0	0	0	0
Pus	<i>E. coli</i>	2	2,7	3	6,38	0	0	0	0
	<i>Klebsiella sp.</i>	4	5,4	1	2,12	2	4	0	0
	<i>Enterobacter sp.</i>	0	0	3	6,38	0	0	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	1	1,3	1	2,12	0	0	0	0
	<i>Proteus sp.</i>	3	4,0	1	2,12	3	6	0	0
	<i>Morganella morganii</i>	0	0	1	2,12	0	0	0	0
Liquide de ponction	<i>E. coli</i>	1	1,3	1	2,12	1	2	0	0
	<i>Klebsiella sp.</i>	1	1,3	1	2,12	0	0	2	8
	<i>Enterobacter sp.</i>	0	0	1	2,12	0	0	0	0
KT	<i>Klebsiella sp.</i>	2	2,70	1	2,12	1	2	2	8
	<i>Enterobacter sp.</i>	0	0	2	4,25	1	2	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	1	1,4	0	0	0	0	0	0

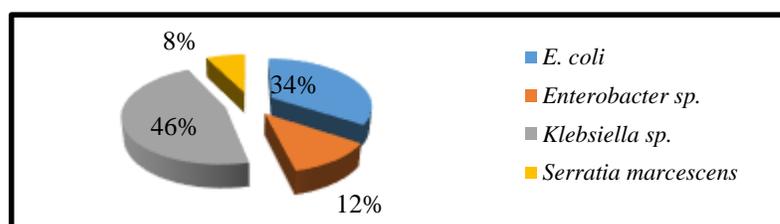


Figure 18: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements sanguins

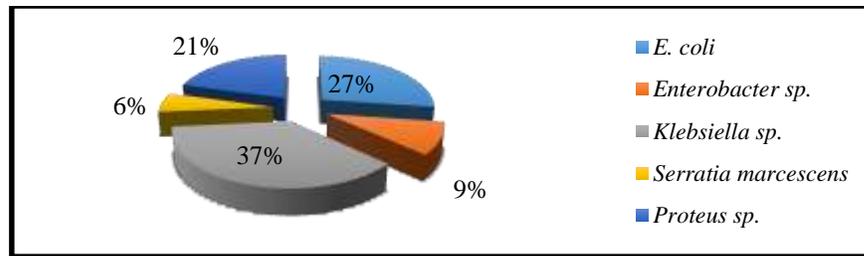


Figure 19: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements urinaires

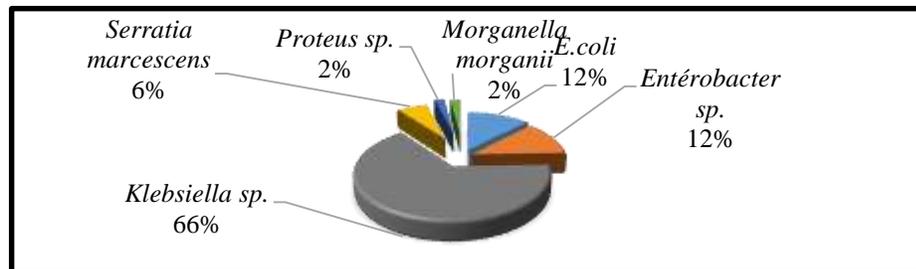


Figure 20: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements distaux protégés

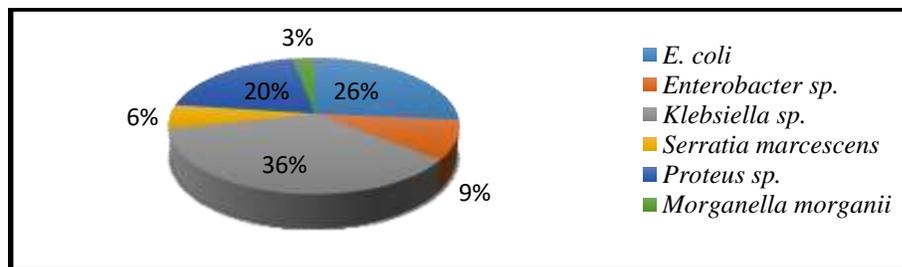


Figure 21: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements de pus

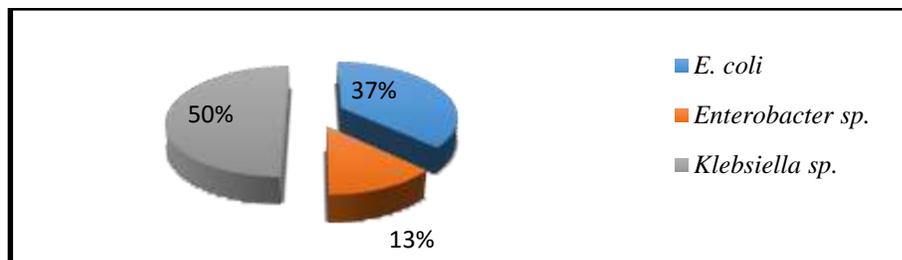


Figure 22: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements des liquides de ponction.



Figure 23: Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des prélèvements des cathéters

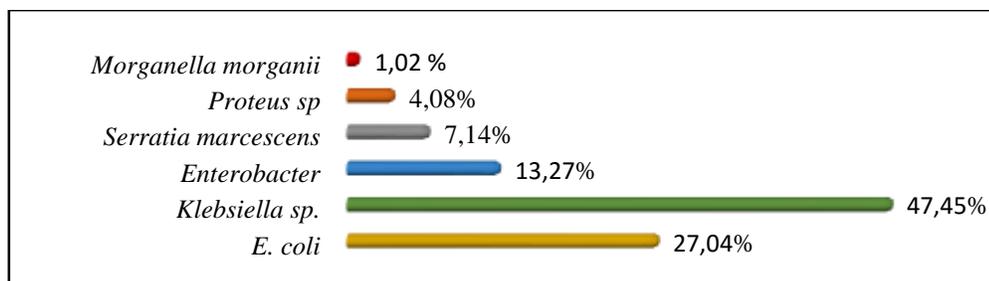


Figure 24: Taux de chaque espèce d'entérobactéries durant la période (Janvier 2015-Avril 2018)

La distribution totale des espèces isolées, révèle que *Klebsiella sp.* occupe la première place parmi les entérobactéries (93/196) (47,45%). En deuxième position on retrouve *Escherichia coli* (53/196) avec (27,04). En troisième et quatrième position on retrouve et *Enterobacter* (13,27%), et *Serratia marcescens* à (7,14 %). Pour le reste des souches, le pourcentage obtenu durant notre période d'étude n'est pas significatif. Les résultats d'une étude effectuée à l'hôpital de Rabat-Salé du Maroc sont en accord avec nos résultats, où le pourcentage de *Klebsiella sp.* a été impliqué dans (28%) de l'ensemble des cas (72/253). La fréquence d'isolement de *Klebsiella sp.* était de (37%) en 2006, (28%) en 2007 et (35%) en 2008 (TLAMCANI Z., et al., 2009).

III.4. Profil de résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Les 196 souches d'entérobactéries ont été testées vis-à-vis de 18 antibiotiques, durant la période d'étude. Ces molécules appartiennent à 03 familles: β -lactamines (9 molécules), aminosides (2 molécules), quinolones/fluoroquinolones (2 molécules). Plus 4 autres antibiotiques ne faisant pas partie de ces familles (Colistine, Triméthoprime-sulfaméthoxazole, Fosfomycine et Chloramphénicol). Les résultats de la résistance de ces souches en réanimation ont été étudiés.

Il existe actuellement des entérobactéries productrices de BLSE (E-BLSE) qui leur confèrent une résistance à toutes les β -lactamines, à l'exception de l'imipénème. Ces souches posent de sérieux problèmes thérapeutiques en milieu hospitalier (DELMEEE M., 2004).

Parmi les 196 souches étudiées, 33 sont productrices de BLSE; dont *E. coli* (12,1%), *Klebsiella sp.* (72,7%), *Enterobacter sp.* (12,1%) et *S. marcescens* (3,1%).

Tableau 18: Taux des souches à BLSE des entérobactéries isolées.

	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	N=74	%	N=47	%	N=50	%	N=25	%
BLSE +	16	21,6	9	19,1	3	6	5	20
BLSE-	58	78,4	38	80,9	47	94	20	80

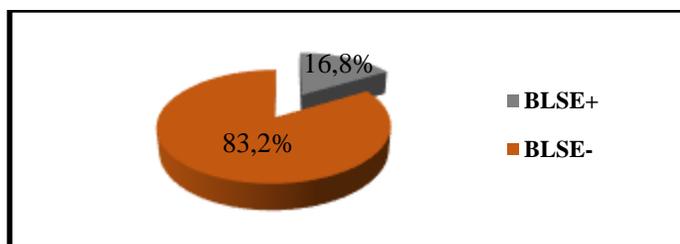


Figure 25: taux des souches à BLSE +

Les résultats est en faveur d'une production de BLSE chez 16,8% des souches. Cette valeur inférieure par rapport au résultat (37,1%) obtenue par **Souna** (2011) qui est noté un taux d'isolement de ces souches est plus important en réanimation (48,7%) qu'autres services signalés.

Parmi les souches E-BLSE, 72,7% sont des *Klebsiella*. Ce taux plus proche au résultat obtenu (2014) en Turquie (80%) par **Seniha et al** et plus élevée celle enregistrée en l'Amérique latine (24,5%) par **Manuel et al**.

III.4.1. Profil de résistance de *Escherichia coli*

Au cours de l'étude rétrospective et prospective, un total de 53 souches de *E. coli* a été isolé. Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans le tableau et les histogrammes suivants :

Tableau 19 : Résistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques

	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	
ATB	N=26	%	N=9	%	N=14	%	N=4	%
AMP	25	96,15	9	100	11	78,71	4	100
AMX	20/21	95,24	7/7	100	11	78,71	4	100
AMC	21/24	87,50	9	100	7	50,00	3	75,00
TIC	25	96,15	9	100	12	85,71	4	100
PRL	21/22	95,45	6/6	100	11	78,71	4	100
CZ	21	80,77	9	100	6	42,86	3	75,00
CTX	21	80,77	3	33,33	3/12	25,00	3	75,00
CRO	11/21	52,38	3	33,33	3/11	27,27	3	75,00
IMP	0	0,00	0	0,00	0/3	0,00	0	0,00
AK	4/21	19,05	1	11,11	1/1	100	0/1	0,00
GN	12/25	48,00	3/8	37,50	2	14,29	1	25,00
NA	1/ 4	25,00	1/1	100	2/6	33,33	3	75,00
CIP	11	42,31	3	33,33	4	28,57	2	50,00
CT	0/22	0,00	0	0,00	1/13	07,69	0	0,00
SXT	4/4	100	1/1	100	9/12	75,00	2/3	66,67
FOS	0/7	0,00	0/2	0,00	0/6	0,00	-	-
C	5/19	26,32	2/7	28,57	0/4	0,00	0	0,00

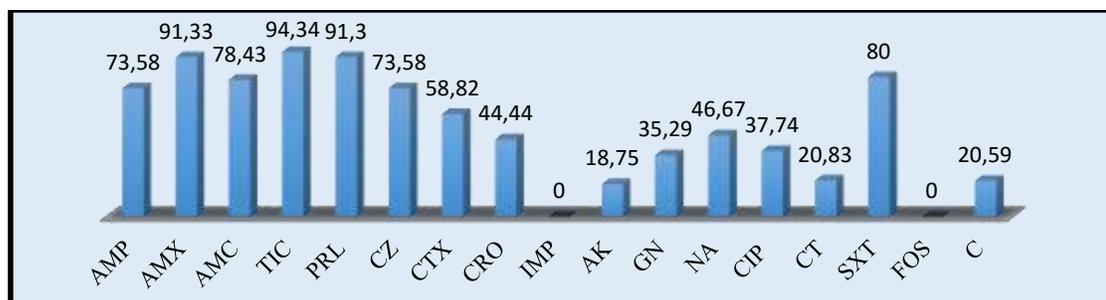


Figure 26: Taux de résistance des souches de *Escherichia coli* isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

D'après le tableau et l'histogramme, nous notons que plus de 73% des souches ont acquis une résistance aux Pénicillines (AMP, AMX, AMC, TIC et PRL), aux céphalosporines (CZ, CTX et CRO) par l'acquisition de pénicillinase peut être inhibée par l'acide clavulanique et les autres inhibiteurs.

Concernant les aminosides (AK et GN), les quinolones (NA et CIP), Colistine (CT) et le Chloramphénicol (C), ont présenté les taux les plus faibles (de 18% à 46% de résistance). Tandis que 80% sont devenues résistantes au Triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT)

En Algérie, **BOUZENOUNE *et al* (2009)** ont enregistré un taux plus élevé de 50% de résistance à AMC et AMP, 43% de résistance à SXT et 12% à NA.

Dans une autre étude, réalisée sur des espèces de *E.coli* prélevées de l'environnement, des taux de résistance ont été observés avec l'Amoxicilline+Acide clavulanique (35,38%), l'Acide Nalidixique (23,07%), le Sulfaméthoxazole-Triméthoprime (20,80%), le Chloramphénicol (19,92%), alors que les plus faibles taux ont été enregistrés pour le Ceftriaxone (3,07%), l'Amikacine (9,23%) et la Céfotaxime (12,3%). Aucune souche résistante à la Ciprofloxacine, et à l'imipénème n'a été détectée (**BODERING A., *et al.*, 2017**).

En France, une résistance totale des souches de *E.coli* à l'ampicilline a été notée par **JELLIMANN** en 2002.

Selon l'OMS, un taux de résistance de *E.coli* à l'amoxicilline est rapporté à (0,03%) en France, 44% en Grèce et 17% à Chypre (**DJOHER, 2013**). **Delmée (2004)** a noté un taux de 50% de résistance.

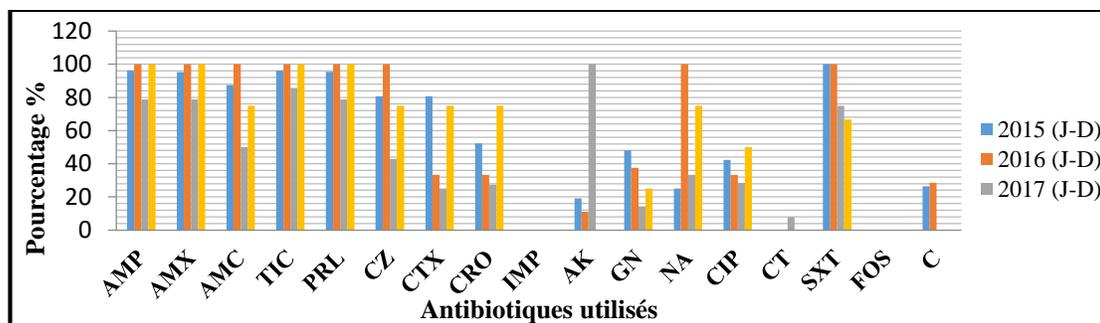


Figure 27: Evaluation de la résistance de *Escherichia coli* aux antibiotiques testés.

Selon l’histogramme, nous notons que la résistance de *E. coli* a progressé de 92% à 100%, de l’année 2015 à 2018 vis-à-vis des pénicillines, à l’exception de la résistance vis-à-vis de l’association de l’amoxicilline + l’acide clavulanique (AMC) qui a diminué de 87,5% à 75%.

En ce qui concerne les céphalosporines testées, une diminution de la résistance pour la céfazoline et la céfotaxime de 81% à 75% est constatée. Par contre, la résistance à l’antibiotique céftriaxone de 52% à 75% est enregistrée. Une sensibilité totale à l’imipénème est détectée.

Concernant les aminosides, *E.coli* présente un taux de résistance faible pour la gentamicine (GN) (25%) et sensibilité totale à l’amikacine (AK).

Pour la ciprofloxacine (CIP) et l’acide nalidixique, on observe une évolution de la résistance de 25% à 50% et 42,31% à 50% respectivement. Pour les autres antibiotiques, une résistance importante est observée vis-à-vis de triméthoprime-sulfaméthoxazole. Une sensibilité totale est notée envers la colistine (CT), et le chloramphénicol (C) qui restent très efficaces sur ces souches.

III.4.2. Profil de résistance de *Klebsiella sp.*

Durant notre étude, 93 souches de *Klebsiella sp.* ont été isolées. Parmi celles-ci on retrouve 90 souches de *K.pneumoniae* et 3 souches de *K. oxycola*. Les résultats de la résistance de ces souches sont mentionnés dans le tableau et les histogrammes suivants :

Tableau 20: Résistance de *Klebsiella sp.* vis-à-vis des antibiotiques testés

ATB	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
AMP	28/28	100	21	100	21	100	20	100
AMX	24/24	100	17/17	100	21	100	20	100
AMC	22	70,98	16	76,19	13	61,90	15	75,00
TIC	29/29	100	20/20	100	21	100	19/19	100

PRL	25/25	100	20/20	100	20/20	100	20	100
CZ	19	61,90	17	80,95	14	66,67	16	80,00
CTX	18	58,06	15	71,43	14/20	70,00	14	70,00
CRO	19	61,29	15	71,43	13/20	65,00	14	70,00
IMP	0	0,00	0/25	0,00	0/17	0,00	0/16	0,00
AK	0/23	0,00	1/12	8,33	1/4	25,00	1/9	11,11
GN	9/24	37,50	9/21	42,86	10	47,19	8/18	44,44
NA	3/4	75,00	4/6	66,67	6/6	100	10/19	52,63
CIP	6/28	21,43	6	28,57	10	47,19	6/17	35,29
CT	0/26	0,00	2	9,52	0	0,00	1	5,00
SXT	-	-	3/5	60,00	8/12	66,67	9/16	56,25
FOS	0/7	0,00	-	-	0/4	0,00	-	-
C	0/21	0,00	2/13	15,38	1/14	7,14	4/16	25,00

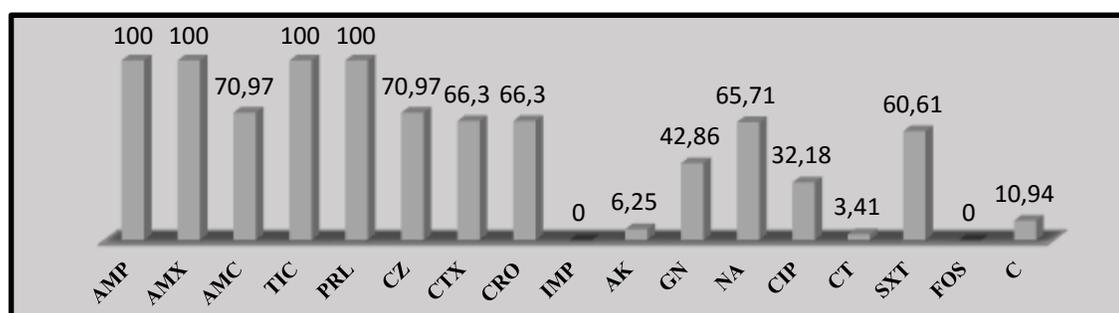


Figure 28: Taux de résistance de *Klebsiella spp.* vis-à-vis des antibiotiques testés

Dans notre résultat, les taux de résistance les plus élevés sont enregistrés avec la famille des β -lactamines (plus de 66% de résistance), à l'exception de l'imipénème qui a une forte activité sur ces souches (aucune souche n'est résistante).

Ce résultat est confirmé par **Ivano et Egorov (2008)** qui ont aussi trouvé que la totalité des souches de *Klebsiella sp.* Isolées au niveau d'un service de réanimation et de soins intensifs sont résistantes aux β -lactamines.

Concernant la résistance à l'ampicilline, à l'amoxicilline, aux ticarcilline et pipéracilline, la bactérie possède une résistance naturelle par sécrétion d'une pénicillinase qui peut être inhibée par l'acide clavulanique (**SAKHER A., 2011**).

Des résultats très proches dans les différents services du CHU de Sidi Bel Abbas (Algérie) ont été obtenus par **Souna (2011)** avec 100% de résistance.

Les *Klebsiella* sont normalement sensibles aux céphalosporines. Certaines souches peuvent devenir résistantes par l'acquisition des céphalosporinases plasmidiques qui sont inhibées par l'acide clavulanique.

Généralement, les aminosides sont moins actifs sur les souches de *Klebsiella sp.* par rapport aux souches de *E. coli*. Par ailleurs, nous observons une résistance à la gentamicine de 42,86%. Ce résultat est très proche de celui de **Farah et al.**, (2007). Par contre, il est assez éloigné de celui de **Camara et al.**, (2013) qui ont rapporté un taux de 78,6%.

D'autres parts, en Tunisie, **Ben Haj Khalifa et Khedher (2010)**, dans l'hôpital universitaire Tahar Sfar de Mahdia (Tunisie) ont enregistré une résistance de 4%. Par contre **Belbel (2014)** a enregistré 51% de résistance.

Concernant la résistance aux quinolones, nous avons observé (65,71%) de résistance à l'acide nalidixique. Un résultat semblable a été mentionné par **Souna (2011)** dans le CHU de Sidi Bel Abbas (Algérie), avec 66,7%.

La meilleure sensibilité a été obtenue aussi avec la fosfomycine qui a pu inhiber toutes les souches. Un taux de 60,61% a été détecté pour l'association triméthoprime + sulfaméthoxazole, ce taux est en accord avec les résultats de **Farah et al.**, (2007), qui ont rapporté 67,3%.

En ce qui concerne les polypeptides, on a enregistré une très faible résistance de 3,41% à la colistine. Un résultat proche a été observé dans une étude menée par **Souna (2011)**.

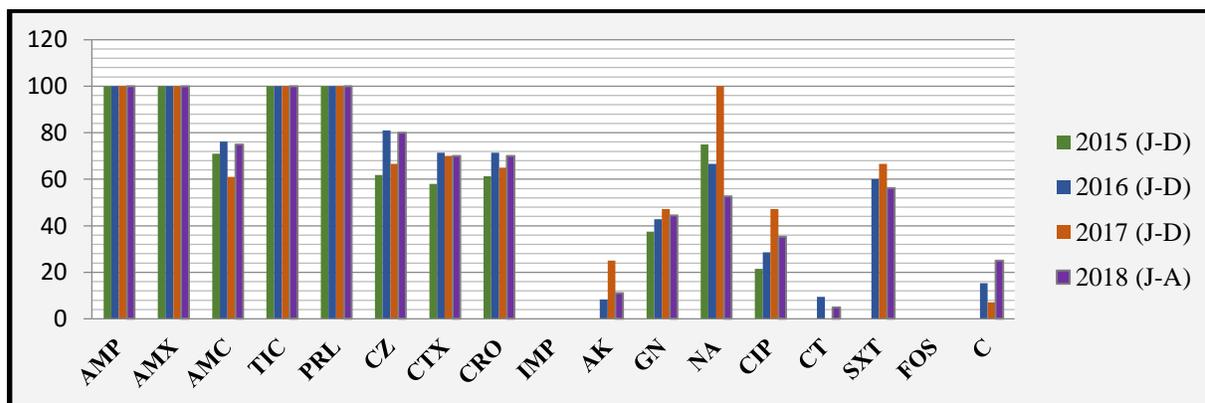


Figure 29: Evolution de la résistance de *Klebsiella sp.* aux antibiotiques testés.

Au cours de notre étude, on remarque une résistance totale des souches aux pénicillines, à l'exception de l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) où la résistance est diminuée de 71% en 2015 à 61% en 2017. Elle a par contre augmenté jusqu'à 75% en 2018. Une sensibilité totale des souches à l'imipénème est constatée durant notre étude.

Concernant les Céphalosporines, la résistance a augmenté de 58% à 70%. La résistance à la céfotaxime est expliquée par la production des β -lactamases de type CTX-M (**PITOUT et al.**, 2004).

Par ailleurs, nous observons une évolution de la résistance de *Klebsiella sp.* vis-à-vis de l'amikacine (AK) de 0% à 11% et à la gentamicine (GN) de 37% à 44%.

Pour les autres antibiotiques, on remarque aussi des résistances importantes, 52% pour l'acide nalidixique (NA), 35% à la ciprofloxacine (CIP), 56% à la triméthoprime-sulfaméthoxazole et 25% au chloramphénicol.

III.4.3. Profil de résistance de *Enterobacter sp.*

Au cours de notre étude, un total de 26 souches de *Enterobacter sp.* a été isolé. Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans le tableau et les histogrammes suivants :

Tableau 21: Résistance de *Enterobacter sp.* vis-à-vis des antibiotiques testés

ATB	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
	N=31	%	N=21	%	N=21	%	N=20	%
AMP	28/28	100	21	100	21	100	20	100
AMX	24/24	100	17/17	100	21	100	20	100
AMC	22	70,98	16	76,19	13	61,90	15	75,00
TIC	29/29	100	20/20	100	21	100	19/19	100
PRL	25/25	100	20/20	100	20/20	100	20	100
CZ	19	61,90	17	80,95	14	66,67	16	80,00
CTX	18	58,06	15	71,43	14/20	70,00	14	70,00
CRO	19	61,29	15	71,43	13/20	65,00	14	70,00
IMP	0	0,00	0/25	0,00	0/17	0,00	0/16	0,00
AK	0/23	0,00	1/12	8,33	1/4	25,00	1/9	11,11
GN	9/24	37,50	9/21	42,86	10	47,19	8/18	44,44
NA	3/4	75,00	4/6	66,67	6/6	100	10/19	52,63
CIP	6/28	21,43	6	28,57	10	47,19	6/17	35,29
CT	0/26	0,00	2	9,52	0	0,00	1	5,00
SXT	-	-	3/5	60,00	8/12	66,67	9/16	56,25
FOS	0/7	0,00	-	-	0/4	0,00	-	-
C	0/21	0,00	2/13	15,38	1/14	7,14	4/16	25,00

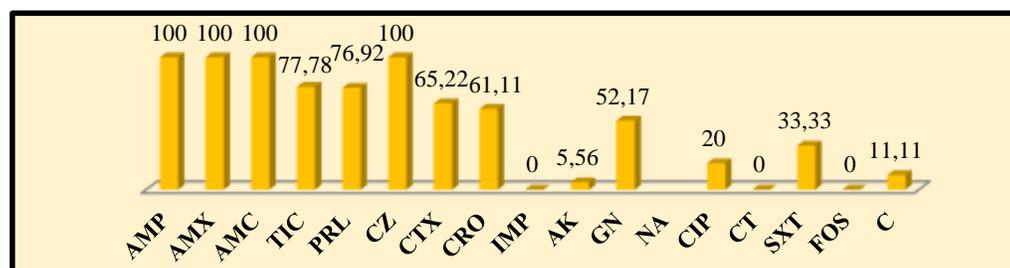


Figure 30: Taux de résistance de *Enterobacter cloacae* vis-à-vis des antibiotiques testés

Nos isolats de *Enterbacter sp.* ont montré un taux élevé de résistance vis-à-vis des β -lactamines (plus de 77% de résistance). Concernant l'imipénème la totalité des souches sont sensibles.

Concernant les aminosides; l'amikacine a inhibé presque toutes les souches isolées (5,56% de résistance) et la gentamicine n'est active que sur la moitié des souches. Les quinolones/fluoroquinolones (Ciprofloxacine), Triméthoprime-Sulfaméthoxazole et Chloramphénicol se sont montrés efficace sur ces souches avec seulement 20%, 33,33% et 11% de résistance, respectivement. Pour les Colistine (CT) et Fosfomycine (FOS) une excellente activité sur les souches étudiées (0% de résistance) est remarquée.

Selon des travaux de la faculté de médecine (**Pierre et Marie Curie**) en 2002, les *E. cloacae* sont naturellement résistantes à l'amoxicilline par production d'une β -lactamase chromosomique de classe C inductible *AmpC* et restent sensibles à la ticarcilline (**DJOHAR S., 2013**).

En France, un pourcentage important de souche de *E. cloacae* est résistant à la gentamicine, et certaines souches initialement sensibles au céfotaxime peuvent devenir résistantes aux C3G (Céftriaxone) au cours d'un traitement par une de ces céphalosporines. Il s'agit soit de l'induction d'une céphalosporinase chromosomique, soit de la sélection d'un mutant déprimé produisant à haut niveau cette céphalosporinase (**Avril L., et al., 2000**) ;

III.4.4. Profil de résistance de *Proteus sp.*

Au cours de notre étude, un total de 14 souches de *Proteus sp.* a été isolé.

Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans le tableau et les histogrammes suivants.

Tableau 22: Résistance de *Proteus sp.* aux antibiotiques testés

	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)	
	Résistant		Résistant		Résistant	
ATB	N=5	%	N=2	%	N=7	%
AMP	4	80	1	50	4	57,14
AMX	4	80	1	50	4	57,14
AMC	0	0,00	1	50	4	57,14
TIC	3	60	1	50	4	57,14
PRL	3	60	1	50	4	57,14
CZ	0	0,00	1/1	100	2/4	50
CTX	0	0,00	1	50	2/5	40
CRO	0	0,00	1	50	2/5	40
IMP	0/4	0,00	0	0,00	0/3	0,00
AK	0	0,00	-	-	2/2	100

GN	0	0,00	1	50	1	14,29
NA	-	-	-	-	2/3	66,67
CIP	0	0,00	0	0,00	2	28,57
CT	5	100	2	100	7	100
SXT	-	-	-	-	4/4	100
FOS	-	-	-	-	0/3	0,00
C	0/4	-	-	-	0/2	0,00

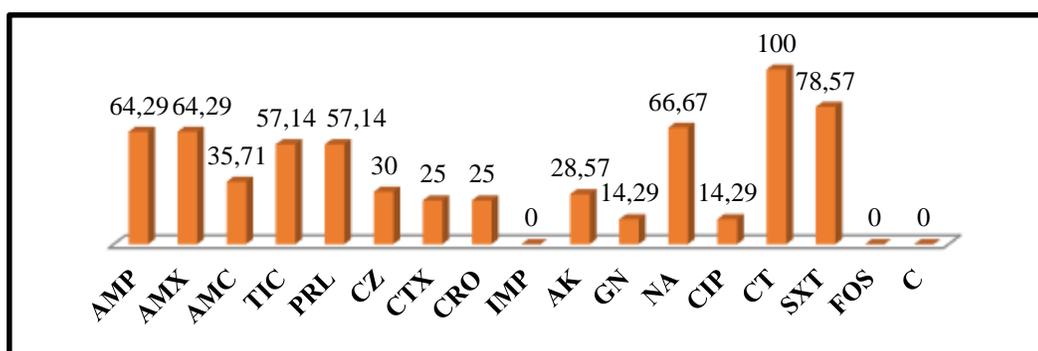


Figure 31: Taux de résistance de *Proteus sp.* vis-à-vis des antibiotiques testés

D'après le tableau et l'histogramme, les souches isolées, présentent une résistance assez importante à certains antibiotiques. Concernant, les β -lactamines, une résistance élevée (> 57%) est observée vis-à-vis des pénicillines testées. Pour l'AMC la résistance est de 35,71%.

Par ailleurs, nous constatons 25 à 30% de résistance avec les céphalosporines testées. Cependant, une sensibilité totale à l'imipénème est enregistrée. Ce résultat est proche de celui de **Leulmi Z (2015)** qui a noté 0,91% de résistance.

Concernant les aminosides, une résistance vis-à-vis de la gentamicine (14,29%) et l'amikacine (28,57%) résulte de la production des enzymes modifcatrices de ces antibiotiques.

Quant aux autres antibiotiques, un taux de résistance 78,57% a été observé pour la colistine, 66,67% pour l'acide nalidixique et 14,29% pour la ciprofloxacine. La totalité des souches sont sensible 100% à la fosfomycine et chloramphénicol. Une résistance totale notée pour l'association triméthoprime- sulfaméthoxazole.

En Algérie, des résultats plus proches sont obtenus par **Leulmi Z (2015)** quia enregistré des fréquences de la résistance de *P. mirabilis* à l'amoxicilline, l'association de l'amoxicilline + l'acide clavulanique, la céfotaxime et la ceftriaxone avec 65,62%, 25%, 56,5% et 56,38 respectivement. Quant à l'amikacine, le taux de résistance était nettement faibles, soit 9,838%. **Bouzenoune et al. (2009)** ont noté 27,3% de résistance à la céfazoline.

III.4.5. Profil de résistance de *Serratia marcescens*

Durant notre étude, 8 souches de *S. marcescens* ont été isolées. Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans le tableau et les histogrammes suivants.

Tableau 23: Résistance de *Serratia marcescens* aux antibiotiques testés

	2015 (J-D)		2016 (J-D)		2017 (J-D)		2018 (J-A)	
ATB	N=2	%	N=2	%	N=3	%	N= 1	%
AMP	2	100	2	100	3	100	1	100
AMX	-	-	1/1	100	3	100	1	100
AMC	1/1	100	2	100	3	100	1	100
TIC	1/1	100	2	100	1	33,33	1	100
PRL	-	-	1/1	100	1	33,33	1	100
CZ	-	-	1/1	100	3	33,33	1	100
CTX	0/1	0,00	1	50	0	0,00	1	100
CRO	0/1	0,00	1	50	0	0,00	1	100
IMP	0/1	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
AK	0/1	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00
GN	0/1	0,00	1	50	0	0,00	1	100
NA	-	-	0/1	0,00	-	-	0	0,00
CIP	0/1	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
CT	0/1	0,00	1	50	3	100	1	100
SXT	-	-	0/1	0,00	0	0,00	0	0,00
FOS	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	0/1	0,00	0/2		-	-

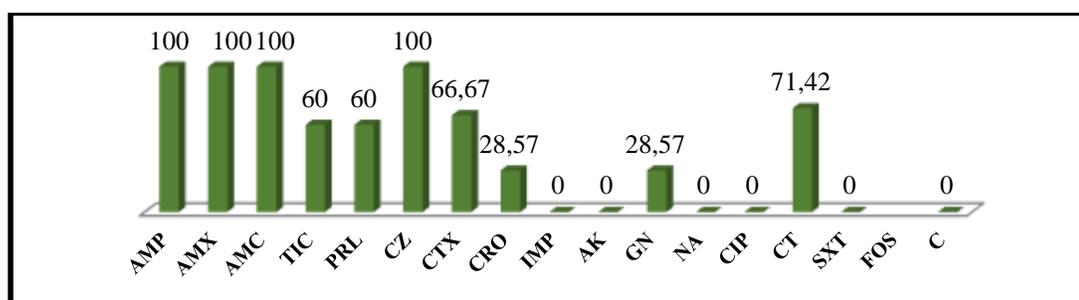


Figure 32: Taux de résistance de *Serratia marcescens* vis-à-vis des antibiotiques testés

Les *Serratia marcescens* sont naturellement résistantes à l'AMP, l'amoxicilline et C1G par production de céphalosporinase chromosomique (**Service de Bactériologie, 2003**). Une résistance plasmidique fréquente a permis l'implantation de ces souches en milieu hospitalier (**DELMEEE, 2004**).

La totalité des souches isolées sont sensibles à l'imipénème, l'amikacine, l'acide nalidixique, la ciprofloxacine, l'association de la triméthoprine + sulfaméthoxazole et chloramphénicol.

III.4.6. Profil de résistance de *Morganella morganii*

Du premier janvier 2015 jusqu' à avril 2018, 2 souches de *Morganella morganii* ont été isolées à partir de prélèvement de pus et prélèvement distale protégé. Ces deux souches se sont révélées:

- 100% résistantes à l'amoxicilline, l'ampicilline, l'association de l'amoxicilline - l'acide clavulanique, céfazoline et colistine.
- 100% sensibles à la ticarcilline, l'imipénème, et chloramphénicol.
- L'une des souches est résistante à la céftriaxone, céfotaxime, l'amikacine, la gentamicine, et ciprofloxacine.

III.4.7. Evaluation de résistance des espèces d'entérobactéries isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

L'histogramme suivant représente les taux de résistance des espèces isolées vis-à-vis des antibiotiques testés.

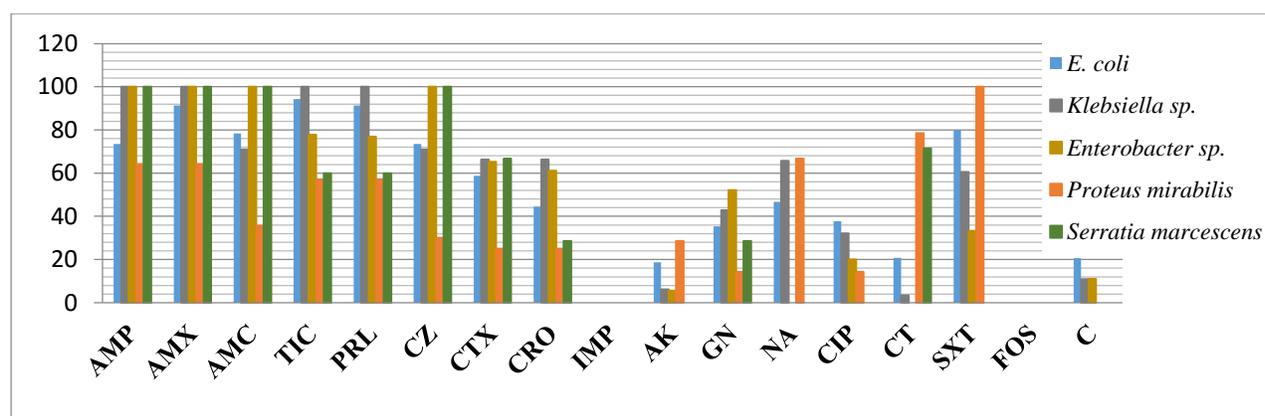


Figure 33: Histogramme de comparaison de la résistance de l'ensemble des espèces étudiées vis-à-vis des antibiotiques testés

Nous remarquons que les taux de résistances d'entérobactéries les plus élevés sont ceux obtenus avec les β -lactamines à l'exception de l'imipénème qui est resté très actifs sur ces souches, où les souches n'ont suscité aucune résistance.

Conclusion

La prise en charge des patients en service de réanimation est d'une grande difficulté. De par leurs pathologies sévères et leur grande fragilité, les malades sont exposés à un risque d'infection important qui représente un problème primordial.

La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue une préoccupation mondiale importante et constitue un problème majeur de santé publique.

Au terme de notre travail, un taux de 33% d'entérobactéries est retrouvé dans les différents prélèvements provenant du service de réanimation. Les 3 espèces les plus isolées sont : *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*, *Enterobacter sp*. Ces souches ont présenté des phénotypes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques en particulier les bêta-lactamines, les quinolones et les aminosides. Seuls les carbapénèmes gardent une excellente activité sur ces souches.

Face aux résultats cumulés lors de ce travail, le suivi continu de l'évolution de la résistance d'entérobactéries aux agents antimicrobiens est donc crucial pour guider le praticien dans son choix de traitement.

La lutte contre la transmission croisée est fondamentale. Il convient pour cela de dépister au plus vite les patients colonisés par des germes multirésistants qui constituent un réservoir à partir duquel les bactéries peuvent disséminer et d'appliquer une stratégie d'isolement spécifique destinée à protéger les autres malades. Par ailleurs, nous conseillons d'utiliser les antibiotiques correctement et surtout lorsqu'il est vraiment nécessaire pour éviter tout phénomène de résistance.

Nous recommandons aussi de mettre en œuvre une stratégie, une réglementation et un contrôle rigoureux de l'hygiène en milieu hospitalier pour la prévention et la limitation de la dissémination des bactéries.

Références bibliographiques

- ADJA N.** (2005). Les entérobactéries sécrétrices de Béta-lactamines à spectre élargi. Thèse de doctorat en pharmacie. Dakar: Université Cheikh de Dakar; 18, 23p.
- AIT HADIS., et BOULGUIT K.** (2016). Les infections bactériennes (aux entérobactéries chez les grands brules, au centre des grands brules, de l'hôpital central de l'armée. thèse de master. Alger: *Université Houari Boumadiene*;27p.
- ALFANDARI A.** (2003). Prévention des infections urinaires nosocomiales: effets de l'infection urinaire sur la durée de séjour, le cout et la mortalité. *Medcine et maladies infectieuses*; 33: 247.
- ARIKA A., MESBAHI Y., DERKAOUI A., SHIMI A., et KHATOUF M.** (2015). Les pneumopathies nosocomiales en réanimation. Fès: *CHU Hassan II*;
- AVRIL L., DARBERNAT H., DENIS F., et MONTEIL H.** (2000). Bactériologie clinique, 3^{ème} génération. Paris: *Ellipses édition Markting S.A*; 171,172p.
- BELBEL Z., CHETTIBI H., DEKHIL M., LADJAMA A., NEDJAI A., et ROLAIN J. M.** (2014). Outbreak of an *armA* methyltransferase-producing ST39 *Klebsiella pneumoniae* clone in a pediatric Algerian Hospital.Marseille: *Epub*; 20 (4):310-5p.
- BEN HAJ K.A., et KHEDHER M.** (2009). Epidemiological study of *Klebsiella* sp. uropatogenic strains producing extended spectrum β -lactamase in a Tunisian university hospital.Paris: *Pathol Biol*; 148 (1)
- BODERING A., NDOUTAMIA G., NGANDOLO B. N., et NGAKOU A.** (2017). Utilisation des antibiotiques et profil de résistance des souches de *Salmonella* sp. et *Escherichia coli* isolées des exploitations avicoles des villes de N'Djaména et Doba au Tchad. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* , 11(4): 1669-16843.
- BONNET R.** (2006). β -lactamines et Entérobactéries. Dans R. LECLERCQ, & E. BINGEN, *Antibiogramme*. Paris: *Edition ESKA*; 141-177p.
- BOONE D. R., et GARRITY G.** (2001). Bergey's manual of systematic bacteriology; the Archaea and the deeply branching and phototropic bacteria, 2nd edition.
- BRICAIRE L., et BRICAIRE F.** (2007). Maladies infectieux. Des moulins: *Elsevier Masson SAS*; 61p.
- CABONNELLE B., DENIS F., et MARMONIER A.** (1987). Bactériologie médicale: techniques usuelles. Paris: *SIMEP S.A*;
- CABROLIER N., et BERTRAND X.** Epidimiologie et facteurs de risques des infections liée à *Peudomonas aeruginosa*. des entérobactéries *.Internationnal journal des sciences*; 16: 9p.**Collège national des enseignants de réanimation médicale.** (2005). Réanimation et urgences. Paris: *Masson*;

- COURVALIN P., LECLERCQ R., et BINGEN E.** (2006). AntibioGramme 2ème édition. Paris: *Editions ESKA*; 27,44,63, 141,350-349p.
- CRISTIAN C.** (2008). Microbiologie Hygiène Base Microbiologique de la diététique. Paris: *Edition TEC et DOC Lavoisier*; 257p.
- CRONBERG S., BEYTOUT J., et REY, M.** (1987). Maladies infectieuses. PARIS: *Masson pour l'édition française*;
- DELMEEE, M.** (2004). Microbiologie médicale. Louvain: *Université Catholique*; 60,79, 28p.
- DIALLO A. A.** (2013). *Escherichia coli* pathogène et résistances aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaines et animale: prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Toulouse: *Université Toulouse III*;69p.
- DJOHER S.** (2013). Etude l'écologie bactérienne chez nouveau-né à l'unité de néonatalogie dans l'établissement hospitalisé E.H.S. Mère et enfant de Tlemcen. Tlemcen: *Université Abou Bekr Belkaid* ;
- DRAME B.** (2001). Microméthode d'identification et d'étude de la sensibilité des Entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Dakar: *Université de Dakar*;
- EDWARDS P. R., et EWING W. H.** (1977). Identification of the Enterobacteriaceae, 3rd Edition. Minneapolis: *Edition Burgess*;
- FARAH Z., MATHIAS M., MARIO Y., et RAGE D.** (2007). Short communication camel dairy Somalia: Limiting factors and development potential. Somalie: *Pub med*;110: 187-191p.
- FARMER J. J., DAVIS B. R., HICKMAN B. F. W., WHOTER M. A., HUNTLEY C. G. P., et ASBURY M. A.** (1985). Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *Clinical microbiology*; 21.
- FAUCHERE J. L.** (1997). BACTERIOFICHES: Techniques en bactériologie clinique. Paris: *Ellipses*;39, 43p.
- FRANCOIS D., MARIE C. P., CHRISTIAN M., EDOUARD B., et ROLAND Q.** (2007). Bactériologie médicale; techniques usuelles. France: *Les presses de Pollona S.A*;
- FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., et BOLLET C.** (2000). Précis de bactériologie clinique. Paris: *Editions EKA*;1107p.
- FRENEY J., RENAUD F., LECLERQ R., et RIEGEL P.** Précis de bactériologie clinique 2ème édition. Paris: *Editions ESKA*;
- GAUDY C., et BUXERAUD J.** (2005). Antibiotiques: pharmacologie et thérapeutique. Paris: *Elsevier SAS*; 20p.
- GUIRAUD P. J.** (2012). Microbiologie alimentaire. Paris: *Les preses ISBN*;22,80,171p.

- HABIS.** (2009). Etude de la métallo-résistance et de l'Halo-tolérance des entérobactéries isolées des eaux de surface de la région de Sétif. Sétif: *Université de Sétif 1*;
- IVANOV D. V., et EGOROV A. M. (2008).** Spreading and mechanisms of antimicrobial resistance in microorganisms producing Bêta-Lactamases molecular mechanisms of resistance to β -lactam antibiotics of *Klebsiella sp.* strains, isolated in cases of nosocomial infections. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series b: Biomedical Chemistry*; 2(3): 311-317p.
- JELLIMANN J. M.** (2002). Les sépticémies nosocomiales en néonatalogie: influence de l'antibiothérapie et vers un bon usage des antibiotiques. Paris: *Université Henri Poincaré, Nancy 1*;
- KASSAMA M., et HAMADI S.** (2013). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à l'établissement hospitalier spécialisé de Constantine. Constantine: *Université Constantine 1*; 62p.
- LAGHA N.** (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Tlemcen: *Université Abou Bekr Bekaid*; 12, 14p.
- LEHOT J. J., et ARVIEUX C. C.,** (2010). Réanimation et urgences. France: Springer-Verlag.
- LING M., CHI-JAN L., JIUN-HAN C., CHANG P. F., FENG Y. C., YIU-KAY L., JUNG-CHUNG L. et SIUL K.** (2009). Widespread dissemination of aminoglycoside resistance genes *armA* and *rmtB* in *Klebsiella pneumoniae* isolates in Taiwan producing CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Journal: Antimicrobial agents and chemotherapy*; 104–111.
- MALAJATI B., EZZOUINE H., CHARRA B., et BANSSLAMA A.** (2012). Etude épidémiologique des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique en réanimation médicale. Casablanca: *CHU Ibn Rochd*;
- MANUEL G. B., JAIME A. L., MARIA V. V., Eduardo G.** (2014). Extended spectrum β -lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. *Braz j infect DIS.*
- MARCO L.** (2007). Management de la santé, nouvelles perspectives, histoire et sciences de gestion. France: *Editions le Harmattan*; 15, 16p.
- MARTINE B. L., et HENRY B.** (1997). Infections urinaires nosocomiales. *Progrès en Urologie*; 7: 674.
- MESSAI L ACHOUR W et BEN HASSEN A.** (2007). Profil épidémiologique des entérobactéries isolées chez des patients neutropéniques. *Pathologie Biologie*; 55: 230-234.
- NASIRIANI K.** (2016). The effect of brushing with a Soft toothbrush and distilled water on the incidence of ventilator-associated pneumonia in the intensive Care unit. *Tanaffos*; 15: 101-107p.

- NAUCIEL C., et VILDE J. L.** (2005). Bactériologie médicale 2ème édition. Paris: Masson;
- NIANG O.** (2003). Validation d'une micro méthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires. Dakar: *Université de Dakar*;
- PAOLOZZI L., et LIEBART J. C.** (2015). *Microbiologie: Biologie des procaryotes et de leurs virus*. Paris: *Les presses d'Espagne par Unigraf S.L*; 449,452,453p.
- PERRIERE, G.** (1992). Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation certains aspects de l'expression des gènes chez *E. coli* UCBL. Lyon: *Université de Lyon I*;14,77p.
- PILET C.** (1979). Les entérobactéries: Bactériologie médicale et vétérinaire; systématique bactérienne. Paris: *Doins*; 109-187p.
- PILLY E.** (2013). Maladies infectieuses tropicales, 24 ème édition. Paris: *Groupe Burlat*;227p.
- QASSIMI L.** (2010). Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation. Meknès: *Univesité Sidi Mohammed Ben Abd-Ellah*; 43p.
- RAMDANI B. N., SEGHIER M., BELOUNI R., et BENSLIMAN A.** (2009). Manuel de microbiologie. Alger: *Les presses de l'office des publications universitaires*;91,92p.
- RICARD J. D.** (2007). Prévention des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique comment l'améliorer? *Réanimation*; 16: 249-252.
- SAVEY A., et MACHUT A.** (2015). Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte. France: *Réseau REA-Raisin*; 11,67.
- SECK R.** (2005). Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'infection urinaires. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat) N°1. Dakar: *Université Cheikh Anta Diop*; 67p.
- SEKHSOKH Y., CHADLI M., et EL MAMZAOUI S. A.** (2008). Ferquency and antibiotic susceptibility of bactéria identified in urine. Rabat: *Med Mal Infect*; 38 (6): 327-7p.
- SEKHR, A. N.** (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologique de *Klébsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieu au niveau du CHU Ben Badis de Constantine. Sciences et Technologie N°30. constantine: *Université Mentouri*;5, 43-49p.
- SENIHA S. A., ASUMAN I., SIMIN C., AYSE N. O., NAZ C., SEYFI C. O., et SEBAHAT A.** (2014). Gram-negative bacilli causing infections in an intensive care unit of a tertiary care hospital in Istanbul.Turkey. *Jornal Infect Dev Ctries*; 8(5):597-604.
- Service de Bactériologie.** (2003). Bactériologie. Paris: *Université Pierre et Marie Curie*;
- SINGLETON P.** (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotachnologies 6ème édition. Paris: *Dunod*;

SOUNA D. (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbès. Mémoire de Magister en Biologie. Algérie: Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen; 126p.

TALBERT M., WILLOQUET G., et GERVAIS R. (2015). Guide pharmaco clonique. Italie: *Les preses d'imprimer LEGOPRINT*; 1060,1068,1077, 1091p.

TLAMCANI Z., ELLAIA K., KABBAJ H., ALOUI A., et SEFFAR M. Resistance to fluoroquinolone among *Klebsiella* sp. strains producing extended spectrum betalactamases isolated from urine. Paris: *Ann Biol Clin*;67 (5):553-6

TORTORA G. J., FUNKE B. R., et CASE, C. L. (2012). Introduction à la microbiologie 2ème édition. Canada: *Renouveau pédagogique INC*; 421p.

VERHAEGEN J. (2002). Cours de bactériologie : les entérobactéries. Disponible sur www.kuleuven.be/vesaliusonline/UNIKEN%20KONGO.doc

VINCENT J. L., BIHARI D. J., et SUTER P. M. (1995). The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe: Results of the European prevalence of infection in intensive care (EPIC). France: *EPIC international advisory committee*; 27, 639.

ZAMANI A., MASHOUF R. Y., NAMVAR E. Z., et ALIKHANI L. Y. (2012). Detection of *magA* gene in *Klebsiella* sp. isolated from clinical samples. *Iran: Journal of Basic Medical Science*; 16(2): 174-176 p.

Résumés

Résumé

L'infection bactérienne dans les unités de soins intensifs constitue de nos jours, une réalité alarmante et un problème de santé à l'échelle mondiale. La prise en charge des infections causées par ces souches, représente un enjeu prioritaire en raison des risques d'impasse thérapeutique causée par l'émergence d'un nombre croissant de bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Ceci conduit la thérapie antibactérienne à une situation de crise. Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries qui représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif.

Notre étude est menée au laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine ; sur une période de 4 mois (Janvier à Avril 2018).

Le but de cette étude est l'isolement et l'identification des souches isolées à partir de différents prélèvements reçus du service de réanimation ainsi que la détermination de leur profil de résistance vis-à-vis de 18 antibiotiques.

Un total de 117 prélèvements différents provenant du service de réanimation, avec un taux de 33% d'entérobactéries est retrouvé dans les différents prélèvements analysés.

L'évaluation de la résistance vis-à-vis des antibiotiques a montré que :

- ✓ Les taux de résistances les plus élevés sont ceux obtenus avec les β -lactamines à l'exception de l'imipénème où les souches n'ont suscité aucune résistance.
- ✓ Une sensibilité totale à tous les carbapénèmes.
- ✓ L'action des autres antibiotiques a été variable selon les genres étudiés.

La surveillance épidémiologique des infections en réanimation et l'application des mesures d'hygiène sont des priorités à inclure dans tout programme de contrôle et de prévention des infections nosocomiales. Cette condition est une démarche globale qui s'inscrit dans la qualité des soins.

Mots clés : Entérobactéries, Réanimation, Infection nosocomiale, Identification, Résistance aux antibiotiques.

Abstract

Bacterial infection in intensive care units is nowadays an alarming reality and a health problem on a global scale. The management of infections caused by these strains is a priority issue because of the risk of therapeutic impasse caused by the emergence of an increasing number of bacteria resistant to one or more antibiotics. This leads the antibacterial therapy to a crisis situation. Among the germs responsible for bacterial infections, *Enterobacteriaceae* represent one of the main families of gram-negative bacilli.

Our study is conducted in the Bacteriology Laboratory of the Military Regional University Hospital of Constantine; over a period of 4 months (January to April 2018).

The aim of this study is the isolation and identification of strains isolated from various samples received from the intensive care unit and the determination of their resistance profile against 18 antibiotics

A total of 117 different samples from the intensive care unit, with a 33% *Enterobacteriaceae* rate, are found in the various specimens analyzed.

The evaluation of resistance to antibiotics showed that:

- ✓ The highest resistance levels are those obtained with β -lactams with the exception of imipenem where the strains have not given rise to any resistance.
- ✓ Total sensitivity to all carbapenems.
- ✓ The action of other antibiotics has been variable according to the types studied

Epidemiological surveillance of infections in intensive care units and the application of hygiene measures are priorities to be included in any nosocomial infection control and prevention program. This condition is a global approach that fits into the quality of care.

Key words: *Enterobacteriaceae*, Resuscitation, Nosocomial infection, Identification, Antibiotic resistance

ملخص

العدوى البكتيرية في وحدات العناية المركزة واقع مزعج ومشكلة صحية على نطاق عالمي. تعتبر إدارة في الوقت الحاضر تمثل العدوى التي تسببها هذه السلالات مسألة ذات أولوية بسبب خطر حدوث مازق علاجي ناتج عن ظهور عدد متزايد من البكتيريا المقاومة لمضاد حيوي واحد أو أكثر. هذا ما يؤدي بالعلاج الى التأزم. من بين الجراثيم المسؤولة عن العدوى البكتيرية ، لدينا البكتيريا المعوية ، والتي تمثل واحدة من العائلات الرئيسية للعصيات سلبية الغرام تم إجراء دراستنا في مختبر الجراثيم في المستشفى الجامعي العسكري الإقليمي في قسنطينة. على مدى فترة 4 أشهر (من يناير إلى أبريل 2018)

الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتمييز السلالات المعزولة من مختلف العينات الواردة من وحدة العناية المركزة وتحديد مقاومتها ضد 18 مضادا حيويا.

تم العثور على 117 عينة مختلفة قادمة من وحدة العناية المركزة ، مع نسبة وجود 33 ٪ من البكتيريا المعوية ، في العينات المختلفة التي تم تحليلها.

أظهر تقييم مقاومة المضادات الحيوية ما يلي:

حيث لا تظهر السلالات أي imipenem باستثناء β -lactams - أعلى مستويات المقاومة هي تلك التي تم الحصول عليها مع مقاومة تجاهه.

. - حساسية كاملة لجميع Carbapenems

- كان عمل المضادات الحيوية الأخرى متغيرًا وفقًا لأنواع المدروسة

يُعد الترصد الوبائي للعدوى في وحدات العناية المركزة وتطبيق إجراءات النظافة من الأولويات التي يجب إدراجها في أي

. هذا الشرط هو نهج عالمي بلائم نوعية الرعاية، برنامج للرقابة على العدوى الإستشفائية ومنعها

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المعوية ، إنعاش ، عدوى المستشفيات ، تحديد ، مقاومة المضادات الحيوية.

Annexes

Annexe 01:

Tableau 01: Caractères d'indentification des genres le plus fréquemment rencontrés.

	<i>E. coli</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Protus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Glucose		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP(Acétone)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	*
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	*
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H₂S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-
LDC	+	-	v	+	+					
ODC	+	v	v	-	+	v	v	+	-	+

* à 20°C seulement

Annexe 02: Fiche de demande d'examen bactériologique

		de DEMANDE N°.....		CONSULTATION ou D'EXAMEN		à l'hôpital A.N.P ou l'infirmierie de Pneumologie SERVICE de PNEUMOLOGIE.....	
Nom		Prénom		Grade		Corps.....	
Il présente les symptômes urgents suivants :				Réponse du Spécialiste			
Il a déjà les soins et médicaments suivants :							
Examen demandé							
A HMRUC, lele Médecin,				A HMRUC, lele Médecin,			

Annexe 03:

Tableau: Interprétation des infections urinaires nosocomiales (IUN) en fonction de la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie

Contexte	Signes cliniques	Leucocyturie >10 ⁴ /ml	Bactériurie au plus 2 micro-organismes différents	Commentaires	Antibiogramme
IUN Chez un patient non sondé	+	+	≥ 10 ³ UFC/ml	IU	OUI
			< 10 ³ UFC/ml	Inflammation sans bactériurie. Traitement ATB en cours. MO à culture lente ou difficile. Etiologie non infectieux	NA
	-	variable	≥ 10 ³ UFC/ml	Colonisation	NON
			< 10 ³ UFC/ml	Absence d'IU ou de colonisation	NA
	+	-	≥ 10 ⁵ UFC/ml	a) Patient immuno-compétent: refaire ECBU (suspicion d'IU débutante)	NON
				b) Immunodépression (chimiothérapie, greffe)	OUI
IUN Chez un patient sondé			≥ 10 ⁵ UFC/ml	IU	OUI
			< 10 ⁵ UFC/ml	Inflammation sans bactériurie. Traitement ATB en cours. Recherche MO à culture lente ou difficile ou étiologie non infectieuse	NON
			≥ 10 ³ UFC/ml	Colonisation	non
			< 10 ³ UFC/ml	Absence d'IU ou de colonisation	NA

IUN: infection urinaire nosocomiale, IU: infection urinaire, ATB: antibiotique, MO: micro-organisme, ECBU: examen cyto bactériologique des urines, NA: non applicable. UFC: unité formant colonie.

Annexe 04: Composition de certains milieux de cultures réactifs**Eau physiologique**

- Chlorure de sodium9g
- Eau distillé1000ml
- ❖ Filtration sur membrane
- ❖ Stérilisation par autoclave 15 min à 120 min
- ❖ PH = 7

Bouillon nutritif**(milieu de base, complexe, liquide)**

- Extrait de viande sec 5g/l
- Bacot-peptone 10g/l
- Chlorure de sodium 5g/l
- Eau distillé 1000ml
- ❖ Stérilisation par autoclave 15 min à 120°C
- ❖ pH = 7,2 – 7,4

Gélose nutritif

- Peptone 10 g/l
- Extrait de viande 3 g/l
- Extrait de levure 3 g/l
- Chlorure de sodium 5 g/l
- Agar 18 g/l
- ❖ 29g par litre d'eau distillée
- ❖ Autoclaver 15 min à 121 °C
- ❖ PH = 7,3 +/- 0,2

Gélose Chapman**(milieu complexe gélosé, à la fois sélectif et différent)**

- Extrait de viande3 g/l
- Extrait de levure3 g/l
- Tryptone 5g/l
- Peptone bactériologique 10g/l
- Chlorure de sodium 70 g/l
- Mannitol 10 g/l
- Rouge de phénol 0,05 g/l
- Agar 18 g/l
- ❖ Autoclaver 15 min à 121°C
- ❖ pH = 7,4 +/- 0,1

Gélose Muller-Hinton

- Infusion de viande de bœuf 300 ml
- Peptone de caséine17,5 g/l
- Amidon de maïs1,5 g/l
- Agar 10 g/l
- ❖ 37 g par litre de l'eau distillé
- ❖ Autoclaver 15 min à 116°C
- ❖ pH = 7,4

Gélose Hektoen	
- Peptone pepsique de viande	15 g/l
- Extrait de viande	3 g/l
- Extrait de levure	3 g/l
- Lactose	12g/l
- Salicine	2 g/l
- Saccharose	12 g/l
- Chlorure de sodium	5 g/l
- Sels biliaries	4g/l
- Bleu de Bromothymol	0,064 g/l
- Fuchsine acide	0,1 g/l
- Agar	18g/l
- Eau distillé	1000 ml
❖ Autoclaver 15 min à 121°C	
❖ pH = 7,4 +/- 0,2	
❖ Refroidit aux environ de 45°C, 5 ml de l'additif Hektoen sont rajoutés au 225 ml de la gélose Hektoen.	

Milieu Clèd	
- Peptones.....	4g
- Extrait de viande	3g
- Hydrolysate trypsique de caséine	4g
- L-cystine (la L-cystine est un acide aminé soufré).....	0.128g
- Lactose	10g
- Bleu de Bromothymol (indicateur de pH).....	0.002g
- Ager.....	15g
- Eau distillée (qsp).....	1L

Réactifs de la coloration 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 05:
Tableau: lecture de résultats de l'API 20 E

Tests	Composants actifs	QTE	Réactions-enzymatique	Résultats	
				Négatif	Positif
OPNG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	B-galactosidase	incoloré	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune	rouge-orangé (2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	Jaune	rouge-orangé (2)
ODC	L-omithine	1,9	Omithine DéCarboxylase	Jaune	rouge (2)
CIT	Trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	Vert pâle-jaune	bleu-vert – bleu (3)
H₂S	Sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	Incolore - grisâtre	dépôt noir – fin liseré
URE	Urée	0,75	UREase	jaune	rouge – orangé (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	TDA-immédiate	
				jaune	marron - rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'indole	JAMES-immédiate	
				incoloré	rose
VP	Sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne	VP 1 + VP2/ 10min	
				incoloré – rose pâle	rose – rouge (5)
GEL	Gélatine	0,6	Gélatinase	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation – oxydation (GLUcose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation – oxydation (MANnitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
INO	Inositol	1,9	fermentation – oxydation (INOsitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation – oxydation (SORbitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation – oxydation (RHAmnose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation – oxydation (SACHarose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation – oxydation (MELibiose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
AMY	Amygdaline	0,57	fermentation – oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation – oxydation (ARABinose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune

(1): Une très légère couleur jaune également positive, **(2):** Une couleur orange apparaissant après 36-48H d'incubation doit être considérée négative, **(3):** Lecture dans la cupule (zone aérobie), **(4):** La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule, **(5):** Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

Annexe 06:

Tableau de lecture de 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
Imipénème	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
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75	≤10	11-15	≥4/76

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

Annexe 07

Figure: Fiche de résultat d'antibiogramme pour les entérobactéries

Nom :	Prénom :	Age :
Nature du Prélèvement :	Service :	N° :
EXAMEN DIRECT :		
DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :		
Phénotype de résistance :		
ANTIBIOGRAMME POUR ENTEROBACTERIES		
PENICILLINES		AMINOSIDES
Ampicilline		Amikacine
Amoxicilline		Gentamicine
Amoxicilline - ac. clavulanique		Tobramycine
Ticarcilline		QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES
Pipéracilline		Acide nalidixique
CEPHALOSPORINES		Norfloxacine
Céfazoline		Otloxacine
Céfalotine/Céfalexine		Ciprofloxacine
Cefoxitine		DIVERS
Céfotaxime		Colistine
Ceftriaxone		Triméthoprime- Sulfaméthoxazole
Céfixime		Furanes
Céfépime		Fosfomycine
Cefpirome		Chloramphénicol
CARBAPENEMES		
Imipénème		
Ertapénème		
<small>S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant</small>		
Constantine le :		LE MEDECIN

Thème : Bactériologie des Entérobactéries isolées au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC)

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme : Master en Microbiologie et Hygiène Hospitalière

Résumé :

L'infection bactérienne dans les unités de soins intensifs constitue de nos jours, une réalité alarmante et un problème de santé à l'échelle mondiale. La prise en charge des infections causées par ces souches, représente un enjeu prioritaire en raison des risques d'impasse thérapeutique causée par l'émergence d'un nombre croissant de bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Ceci conduit la thérapie antibactérienne à une situation de crise. Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries qui représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif.

Notre étude est menée au laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine ; sur une période de 4 mois (Janvier à Avril 2018).

Le but de cette étude est l'isolement et l'identification des souches isolées à partir de différents prélèvements reçus du service de réanimation ainsi que la détermination de leur profil de résistance vis-à-vis de 18 antibiotiques. Un total de 117 prélèvements différents provenant du service de réanimation, avec un taux de 33% d'entérobactéries est retrouvé dans les différents prélèvements analysés.

L'évaluation de la résistance vis-à-vis des antibiotiques a montré que :

- Les taux de résistances les plus élevés sont ceux obtenus avec les β -lactamines à l'exception de l'imipénème où les souches n'ont suscité aucune résistance.
- Une sensibilité totale à tous les carbapénèmes.
- L'action des autres antibiotiques a été variable selon les genres étudiés.

La surveillance épidémiologique des infections en réanimation et l'application des mesures d'hygiène sont des priorités à inclure dans tout programme de contrôle et de prévention des infections nosocomiales. Cette condition est une démarche globale qui s'inscrit dans la qualité des soins

Mots clés : Entérobactéries, Réanimation, Infection nosocomiale, Identification, Résistance aux antibiotiques.

Laboratoire:

Laboratoire de Biologie, Unité de Microbiologie et Parasitologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine(HMRUC) « BENBAATOUCHE ABDELALI »

Président du jury : Mr. BENLABED. K (Professeure – CHU Constantine)

Rapporteur : Mme. ZITOUNI. H (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

Examineur : Mme KHELILI K. (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

Maitre de stage : Mr. GUIT OUALID (Maitre-assistant – HMRUC Constantine)

Date de soutenance : 02/07/2018