



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département : Microbiologie**

**قسم : الميكروبيولوجيا**

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes**

Intitulé :

---

**Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Enterobacter cloacae*  
isolées au niveau de l'établissement public hospitalier El bir Constantine**

---

**Préparé par : ZALIF Bani Sabrine**

**Le : 23/09/2021**

**ZERKINE Nihel Lamis**

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury :** M<sup>me</sup> SEKHRI-ARAFA. N (M.C.A - UFM Constantine 1).

**Rapporteur :** M<sup>me</sup> BOUZERAIB. L (M.A.A - UFM Constantine 1).

**Examinatrice :** M<sup>me</sup> MEZIANI. M (M.C.B - UFM Constantine 1).

*Année universitaire  
2020- 2021*

## Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu « ALLAH », le Tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour entamer et terminer ce mémoire.

Nous tenons à remercier vivement **Mme Bouzeraib L**, Maître assistante A à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, d'avoir accepté d'encadrer ce modeste travail, pour son aide, ses orientations et ses précieux conseils tout au long de notre travail.

Nos remerciements s'adressent à **Mme Sekhri-Arafa N**, Maître de conférences A à l'université des frères Mentouri Constantine 1, pour avoir accepté de présider le jury de notre soutenance.

Nos remerciements s'adressent également à **Mme Meziani M**, Maître de conférences B à l'université des frères Mentouri Constantine 1, pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury et examiner ce mémoire.

On remercie **Dr Benabbes Ferial** pour l'aide précieuse qu'elle nous a fournie pour l'obtention des informations nécessaires du laboratoire de microbiologie de l'hôpital El bir malgré la crise sanitaire que traverse notre pays et le monde entier causée par la pandémie du COVID19.

À ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.

**Nihel et Bani ...**

## Dédicaces

Tout d'abord je tiens à remercier mon dieu, le tout puissant de m'avoir aidé à arriver au bout de mes études et réaliser ce modeste travail que je dédie ;

**A ma chère maman**, ma source de bonheur et de motivation, pour tes sacrifices, ton amour, ta tendresse, et tes prières tout au long de mes études. Tu es mon exemple de courage. Que

Dieu te garde pour moi.

**A mon cher papa**, mon exemple éternel, pour ton soutien, tes précieux conseils, tout au long de mon chemin de la vie. Tu m'as transmis l'amour de la science et le savoir. Que Dieu te

garde pour moi.

**A mon frère et mes sœurs**, je vous souhaite une longue vie pleine de succès et de bonheur que dieu vous protège et illumine vos chemins.

**A mon cher binôme : Bani** pour les bons moments qu'on avait partagés ensemble.

**A toute personne** qui m'a aidé et encouragé de près ou de loin Merci d'être toujours là pour moi.

**A toute ma famille**

Nihel lamis...



## Dédicaces

Pour ceux qui m'ont donné naissance je leur dédie cette œuvre en signe de reconnaissance car je veux être à la hauteur de leur espérance, maman, papa, je vous remercie pour votre présence qui m'a aidé a surmonté mes endurance.

Je dédie cette œuvre également à mes deux frères pour leur encouragements et soutien et à ma copine et mon binôme Nihel merci pour les moments joyeux passés ensemble

Je témoigne toute ma gratitude à tous mes enseignants et honorables professeurs qui m'ont transmis une partie de leur savoir qui m'a permis d'obtenir un cursus qui illuminera toujours mon existence.

Je remercie tous ceux et celles qui m'ont apporté aide et encouragements.

A toi ma belle Algérie je reste ta très humble et très obéissante servante.

**Bani Sabrine**



## **Abstract**

*Enterobacter cloacae* is a major opportunistic pathogen involved in nosocomial infections and epidemics, it currently constitutes a serious global public health threat.

In order to establish the bacteriological profile and resistance profile of twelve strains of *E. cloacae*, we conducted a retrospective study of the previous three years (2018, 2019 and first semester of 2020) Based on data from bacteriology records and archived antibiogram records at the microbiology laboratory of EPH El bir Constantine.

The Twelve strains were identified by classical biochemical gallery and then distributed according to well defined criteria. The sensitivity of the strains was studied by the method of discs interpreted in three categories : Sensitive, Resistant, and Intermediate, referring to the standards of the CLSI.

Based on the results of the antibiotic resistance assessment obtained, the majority of isolated strains are resistant to one or more antibiotics tested with the exception of Kanamycin, Imipeneme and Colistine which remain 100% active on all strains.

Our results show that the phenomenon of antibiotic resistance is increasing and alarming in hospital settings. Their emergence represents a serious therapeutic and epidemiological problem, hence the need for the establishment of systems for monitoring the microbial environment of the hospital and the strict application of hygiene measures.

**Keywords :** *Enterobacter cloacae*, antibiotics, resistance, El bir hospital.

## ملخص

تعد البكتيريا المعوية المدرقية *Enterobacter cloacae* أحد العوامل الرئيسية الممرضة الانتهازية التي تتسبب في الإصابة بالأمراض النكفية والأوبئة، وهو يشكل حالياً تهديداً خطيراً للصحة العامة على الصعيد العالمي. من أجل تحديد الملامح البكتريولوجية ولامح المقاومة لاثنتي عشرة سلالة من سلالات *E. cloacae*، أجرينا دراسة بأثر رجعي عن الثلاثة سنوات السابقة (2018، 2019 والسداسي الأول من 2020) واستناداً إلى البيانات المستمدة من سجلات البكتريولوجي وسجلات المضادات الحيوية المحفوظة في مختبر علم الأحياء الدقيقة التابع لمؤسسة الاستشفائية العمومية البيبر قسنطينة.

وقد تم تحديد السلالات الاثنتي عشرة بواسطة معرض الكيمياء الحيوية الكلاسيكي ثم تم توزيعها وفقاً لمعايير محددة جيداً. تم دراسة حساسية السلالات من خلال طريقة الأقراص المفسرة في ثلاث فئات: الحساسية، المقاومة، والوسيط، في إشارة إلى معايير CLSI.

واستناداً إلى نتائج تقييم مقاومة المضادات الحيوية الذي تم الحصول عليه، فإن غالبية السلالات المعزولة تقاوم واحدة أو أكثر من المضادات الحيوية التي تم اختبارها باستثناء كاناميسين وإيميبينيم وكوليستين التي تظل نشطة بنسبة 100% على جميع السلالات.

وتظهر نتائجنا ان ظاهرة مقاومة المضادات الحيوية في تزايد مستمر وبشكل مقلق في المستشفيات. ويمثل ظهورها مشكلة علاجية وبائية خطيرة، ولهذا من الضروري إنشاء نظم لرصد البيئة الميكروبية للمستشفى وتطبيق تدابير النظافة الصحية تطبيقاً صارماً.

**الكلمات المفتاحية:** *Enterobacter cloacae*، المضادات الحيوية، المقاومة، مستشفى البيبر.

## Résumé

*Enterobacter cloacae* est un pathogène opportuniste majeur impliqué dans les infections nosocomiales et les épidémies, il constitue actuellement une menace sérieuse de santé publique à l'échelle mondiale.

Dans le but de dresser le profil bactériologique et le profil de résistance des douze souches d'*E. cloacae*, nous avons mené une étude rétrospective des trois années précédentes (2018, 2019 et du premier semestre de l'année 2020) à partir des données des registres de bactériologie et des fiches d'antibiogrammes archivées au niveau du laboratoire de microbiologie de l'EPH El bir Constantine.

Les Douze souches ont été identifiées par galerie biochimique classique puis réparties selon des critères bien définis. La sensibilité des souches a été étudiée par la méthode des disques interprétés en trois catégories : Sensible, Résistant, et Intermédiaire, en se référant aux normes du CLSI.

D'après les résultats de l'évaluation de l'antibiorésistance obtenus, la majorité des souches isolées sont résistantes à un ou plusieurs antibiotiques testés à l'exception de la Kanamycine, l'Imipenème et la Colistine qui restent actifs à 100% sur toutes les souches.

Nos résultats montrent que le phénomène de la résistance aux antibiotiques augmente de plus en plus et de façon inquiétante dans les milieux hospitaliers. Leur émergence représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place de systèmes de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital et l'application stricte des mesures d'hygiène.

**Mots clés :** *Enterobacter cloacae*, résistance, antibiotiques, hôpital El bir.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification de l'espèce <i>E. cloacae</i> .....	4
<b>Tableau 2.</b> Principaux caractères biochimiques des genres et des espèces d' <i>Enterobacteriaceae</i> les plus fréquemment rencontrés .....	6
<b>Tableau 3.</b> Les antibiotiques testés pour l'antibiogramme.....	22
<b>Tableau 4.</b> Résultats de l'antibiogramme (n=12) .....	26
<b>Tableau 5.</b> Nombre de souches résistantes et sensible vis-à-vis des différents antibiotiques testés (n=12).....	27

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Examen microscopique d' <i>E. cloacae</i> après coloration de Gram .....	5
<b>Figure 2.</b> Aspect macroscopique d'une culture d' <i>E. cloacae</i> sur gélose nutritive.....	5
<b>Figure 3.</b> Mécanismes d'action des antibiotiques .....	11
<b>Figure 4.</b> Structure générale des $\beta$ - lactamines .....	14
<b>Figure 5.</b> Répartition des souches isolées selon l'origine (n=12) .....	24
<b>Figure 6.</b> Répartition des souches isolées selon les services (n=12) .....	25
<b>Figure 7.</b> Répartition des souches isolées selon la nature des prélèvements (n=12).....	24
<b>Figure 8.</b> Répartition des souches isolées selon l'âge (n=12) .....	23
<b>Figure 9.</b> Répartition des souches isolées selon le sexe (n=12) .....	23
<b>Figure 10.</b> Profil global de résistance des souches isolées (n=12) .....	28
<b>Figure 11.</b> Production des $\beta$ -lactamases à spectre élargi (n=12).....	29

## Liste des abréviations

<b>AAC :</b>	Aminoglycoside acétyltransférase
<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AMC :</b>	Amoxicilline + Acide clavulanique
<b>AMP :</b>	Ampicilline
<b>AmpC :</b>	Bêta-lactamase chromosomique
<b>AMX :</b>	Amoxicilline
<b>AN :</b>	Amikacine
<b>ANT :</b>	Aminoglycoside nucléotidyltransférase
<b>APH :</b>	Aminoglycoside phosphotransférase
<b>ARN :</b>	Acide ribonucléique
<b>ARNt :</b>	Acide ribonucléique de transfert
<b>BLSE :</b>	$\beta$ -lactamase à spectre élargi
<b>BMR :</b>	Bactérie multirésistante
<b>C :</b>	Chloramphénicol
<b>C1G :</b>	Céphalosporines de première génération
<b>C2G :</b>	Céphalosporines de deuxième génération
<b>C3G :</b>	Céphalosporines de troisième génération
<b>C4G :</b>	Céphalosporines de quatrième génération
<b>CAZ :</b>	Céftazidime
<b>CFP :</b>	Céfopérazone
<b>CHN :</b>	Céphalosporinase de haut niveau
<b>CHU :</b>	Centre Hospitalier Universitaire
<b>CIP :</b>	Ciprofloxacine
<b>CLSI :</b>	Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>CS :</b>	Colistine
<b>CTX :</b>	Céfotaxime
<b>CTX :</b>	Contagieux
<b>CZ :</b>	Céfazoline
<b><i>E. cloacae</i> :</b>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<b>ECBU :</b>	Examen cytobactériologique des urines

<b>EMB :</b>	Eosin Methylene Blue
<b>EPC :</b>	<i>Enterobacter</i> productrice de carbapénèmase
<b>EPH :</b>	Etablissement public hospitalier El bir Constantine
<b>FOX :</b>	Céfoxitine
<b>GEN :</b>	Gentamycine
<b>IPM :</b>	Imipenème
<b>KAN :</b>	Kanamycine
<b>LPS :</b>	Lipopolysaccharide
<b>NAL :</b>	Acide Nalidixique
<b>NOR :</b>	Norfloxacine
<b>OFX :</b>	Ofloxacine
<b>PEF :</b>	Pefloxacine
<b>PIP :</b>	Pipéracilline
<b>PLP :</b>	Protéines liant la pénicilline
<b>TA :</b>	Traitement ambulatoire
<b>TET :</b>	Tétracycline
<b>TIC :</b>	Ticarcilline
<b>TMP-SMX :</b>	Triméthoprim-Sulfaméthoxasole
<b>UMC :</b>	Urgence médicale et chirurgicale

# Table des matières

<b>Remerciements</b> .....	I
<b>Dédicaces</b> .....	III
<b>Abstract</b> .....	IV
<b>ملخص</b> .....	V
<b>Résumé</b> .....	VI
<b>Liste des tableaux</b> .....	VII
<b>Liste des figures</b> .....	VIII
<b>Liste des abréviations</b> .....	IX
<b>Table des matières</b> .....	XI
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	3
<b>Chapitre I : <i>Enterobacter cloacae</i></b> .....	3
1. Définition.....	3
2. Nomenclature et classification.....	3
2.1. Nomenclature .....	3
2.2. Classification.....	3
3. Habitat (écologie).....	4
4. Caractères bactériologiques .....	4
4.1. Caractères morphologiques .....	4
4.2. Caractères cultureux .....	5
4.3. Caractères biochimiques.....	6
4.4. Caractères antigéniques.....	7
5. Epidémiologie .....	7
5.1. Facteurs de virulence .....	7
• Les Toxines.....	7
• Les Adhésines.....	7
• Les sidérophores.....	7
5.2. Le pouvoir pathogène.....	8
5.3. Modes de transmission.....	8
6. Traitement.....	8

<b>Chapitre II : La résistance aux antibiotiques</b> .....	10
1. Définition des antibiotiques .....	10
1.1. Classification des antibiotiques .....	10
1.2. Mécanismes d'action .....	11
2. Définition de la résistance bactérienne.....	12
2.1. La résistance naturelle (ou intrinsèque ou insensibilité) .....	12
2.2. La résistance acquise .....	12
2.2.1. Résistance par mutation chromosomique.....	12
2.2.2. Résistance par acquisition des gènes étrangers (extra chromosomique).....	13
• Conjugaison .....	13
• Transformation .....	13
• Transduction .....	13
3. La résistance d' <i>Enterobacter cloacae</i> aux antibiotiques.....	13
3.1. Les $\beta$ -lactamines .....	13
3.1.1. Mode d'action .....	14
3.1.2. La résistance aux $\beta$ -lactamines .....	15
3.1.3. Les BLSE « $\beta$ -lactamases à spectre élargi » .....	15
3.2. Les quinolones / fluoroquinolones.....	16
3.2.1. Mode d'action .....	16
3.2.2. La résistance aux quinolones / fluoroquinolones.....	16
3.3. Les aminosides .....	17
3.3.1. Mode d'action .....	17
3.3.2. La résistance aux aminosides .....	17
3.4. La tigécycline.....	17
3.4.1. Mode d'action .....	18
3.4.2. La résistance aux tigécyclines.....	18
3.5. Les polymyxines .....	18
3.5.1. Mode d'action .....	18
3.5.2. La résistance aux polymyxines .....	19
<b>Résultats et discussions de l'étude statistique</b>	
<b>1. Matériel</b> .....	20
1.1. Centre de l'étude .....	20
1.2. Duré et type de l'étude.....	20

1.3. Nature des prélèvements étudiés .....	20
1.4. Services et origines des souches .....	20
<b>2. Méthodes</b> .....	20
2.1. Identification biochimique par galerie classique .....	20
2.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme) .....	21
2.2.1. Technique .....	21
2.2.2. Les antibiotiques testés .....	21
<b>Résultats de l'étude statistique</b>	
1. Répartition des données .....	23
1.1. Répartition des données selon l'origine .....	24
1.2. Répartition des données selon les services .....	25
1.3. Répartition des données selon la nature des prélèvements .....	24
1.4. Répartition des souches isolées selon l'âge des patients .....	23
1.5. Répartition des souches isolées selon le sexe des patients.....	24
2. Résultats de l'antibiogramme .....	26
3. Profil de résistance et de sensibilité des souches isolées .....	28
<b>Discussion de l'étude statistique</b>	
<b>Conclusion</b> .....	34
<b>Références Bibliographiques</b> .....	36
<b>Annexes</b>	

# *Introduction*

*Enterobacter cloacae* est une espèce appartenant à la famille des entérobactéries qui constitue l'une des familles les plus importantes en pathologie humaine. Cette bactérie représente l'espèce type du genre *Enterobacter* (**Le Minor et Véron, 1989**).

C'est une bactérie opportuniste fréquemment isolée en milieu clinique, impliquée le plus souvent dans les infections nosocomiales et colonise généralement la flore intestinale endogène des patients hospitalisés mais peut également se trouver comme source d'épidémie ou de diffusion de patient à patient. Les infections surviennent principalement chez des patients ayant reçu un traitement antibiotique ainsi que ceux en unités de soins intensifs (**Qureshi et al., 2011**).

Depuis leur découverte au début du vingtième siècle, les antibiotiques ont permis de grandes avancées en thérapeutique et ont contribué à l'essor de la médecine moderne, leur efficacité dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Cependant l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme (**Guinoiseau, 2010**).

Durant ces dernières années, le fait le plus inquiétant, est l'émergence et la diffusion des bactéries multirésistantes qui représentent un phénomène complexe, évolutif et inquiétant (**Grimont et Grimont, 2006**).

La montée des résistances est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques administrés à titre curatif ou préventif (**Guinoiseau, 2010**). Ceci est devenu une préoccupation de plus en plus grande dans le monde médical surtout dans les cas de souches totalement résistantes à l'ensemble des molécules disponibles. Ces bactéries constituent ainsi un problème majeur de santé publique d'autant plus que très peu de nouvelles molécules sont mises sur le marché par l'industrie pharmaceutique (**Souna, 2015**).

Dans notre travail, nous avons mené une étude rétrospective en collectant les données à partir du laboratoire de microbiologie de l'EPH El bir Constantine au cours des trois années 2018, 2019 et du premier semestre de l'année 2020.

Nous avons structuré notre démarche en deux parties interdépendantes :

- ✓ La première partie strictement théorique, rassemblant des généralités sur la bactérie *Enterobacter cloacae* et sur les antibiotiques.
- ✓ La deuxième partie analytique traite les différents résultats obtenus au cours de notre étude rétrospective suivie d'une discussion dans laquelle nous interprétons les résultats obtenus.
- ✓ On termine par une conclusion générale qui fera la synthèse des résultats tirés de l'ensemble des parties, des recommandations ainsi que des perspectives pour les futures recherches.

*Synthèse*

*bibliographique*

## Chapitre I : *Enterobacter cloacae*

### 1. Définition

*Enterobacter cloacae* est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des entérobactéries qui regroupe les bactéries ayant un important degré de similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma *Enterobacteriaceae* (**Hormaeche et Edwards, 1960**).

*E. cloacae* fait partie de la flore intestinale normale des humains et des animaux, elle peut végéter sur la peau et les muqueuses et elle représente notamment l'espèce type du groupe *Enterobacter* (**Le Minor et Véron, 1989**).

### 2. Nomenclature et classification

#### 2.1. Nomenclature

En 1890 *E. cloacae* a été décrite pour la toute première fois en 1890, sous la nomenclature : *Bacillus cloacae* et a subis par la suite de nombreux changements taxonomiques devenant *Bacterium cloacae* en 1896 par Lehmann et Neumann, puis *Cloaca cloacae* en 1919 par Castellani et Chalmers, elle a ensuite été identifiée comme *Aerobacter cloacae* en 1923 dans le manuelle Bergey, mais ce n'est qu'en 1960 que la nomenclature d'*Enterobacter cloacae* a été adopté (**Hormaeche et Edwards, 1960**).

#### 2.2. Classification

Aujourd'hui et avec les progrès de la biologie moléculaire *E. cloacae* est classée sur la base du séquençage des ARN 5S et 16S :

**Tableau 1.** Classification de l'espèce *E. cloacae* (Delarras, 2007)

<b>Domaine</b>	<i>Eubacteria</i>
<b>Phylum</b>	<i>Proteobacteria</i>
<b>Classe</b>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<b>Ordre</b>	Enterobacteriales
<b>Famille</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Enterobacter</i>
<b>Espèce</b>	<i>Enterobacter cloacae</i>

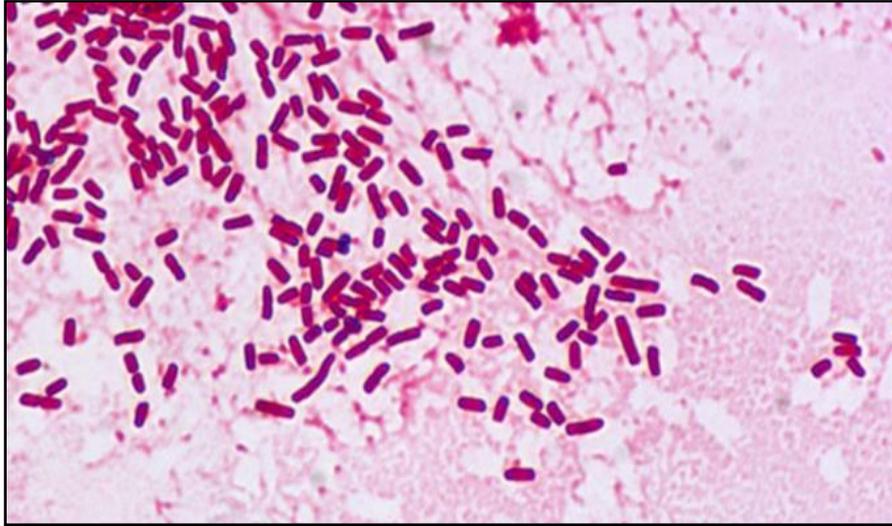
### 3. Habitat (écologie)

*E. cloacae* est une espèce omniprésente dans les milieux terrestres et aquatiques (eau, égouts, sol, végétaux et la nourriture), elle est retrouvée également au niveau de la flore normale du tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux présente à l'état commensal. (Mezzatesta *et al.*, 2012).

### 4. Caractères bactériologiques

#### 4.1. Caractères morphologiques

*Enterobacter cloacae* est un bacille à Gram négatif aéro-anaérobie facultatif non sporulant qui mesure entre 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur, mobile grâce à des flagelles péritriches et est doté de pilus de classe 1 (Hart, 2006).



**Figure 1.** Examen microscopique d'*E. cloacae* après coloration de Gram  
(Versalovic *et al.*, 2011)

#### 4.2. Caractères cultureux

Sur gélose nutritive, *E. cloacae* se cultive rapidement en formant des colonies rondes avec un diamètre de 2 à 3 millimètres qui sont légèrement plates avec des bords irréguliers (Grimont et Grimont, 2006).



**Figure 2.** Aspect macroscopique d'une culture d'*E. cloacae* sur gélose nutritive  
(Atong *et al.*, 2016)

Sur un milieu Drigalski, ses colonies sont lactose positives (ou négatives), rondes, légèrement irisées avec un diamètre de 2 à 3 millimètres, comme elle peut présenter des colonies

plates à bords irréguliers. Sur un milieu Hektoen, les colonies prennent une couleur saumon, elles sont rondes, irisées avec un diamètre de 2 à 3 millimètres. Sur un milieu EMB, les colonies sont rosées, légèrement bombées et muqueuses avec un diamètre de 3 à 4 millimètres (Le Minor et Véron, 1989).

### 4.3. Caractères biochimiques

*E. cloacae* est une bactérie oxydase négative, catalase positive et nitrate réductase positive, fermente ou non le lactose et possède une  $\beta$ -galactosidase mais elle est dépourvue d'ADNase et de lipase (Le Minor et Véron, 1989). C'est une bactérie mésophile avec une température optimale de 30 °C (Hart, 2006).

**Tableau 2.** Principaux caractères biochimiques des genres et des espèces d'*Enterobacteriaceae* les plus fréquemment rencontrés (Le Minor et Véron, 1989)

	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Levinea</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus morganii</i>	<i>Proteus rettgeri</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia</i>
Mobilité	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	+	+	+	d	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
H <sub>2</sub> S	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LDC	+	-	-	d	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ODC	+	-	+	d	d	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
ADH	-	-	d	d	d	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Uréase	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
Indole	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-	+	-	+	+	d	-
Citrate	+	+	+	-	-	+	+	d	+	d	d	-	+	+	-	-
VP	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	d	-	-	-	d	-

+ : Résultat positif      - : Résultat négatif      d : Résultats variables

#### 4.4. Caractères antigéniques

Des auteurs japonais ont décrit 53 antigènes O, 56 antigènes H et 79 sérotypes différents (Le Minor et Véron, 1989).

### 5. Epidémiologie

#### 5.1. Facteurs de virulence

- Les toxines

Une toxine Shiga-Like et une toxine Coli-Like  $\alpha$ -hémolysine thermostable représentent les toxines les plus importantes chez les *Enterobacter*, dont *Enterobacter cloacae* (Lehner *et al.*, 2011).

- Les adhésines

La plupart des souches d'*Enterobacter* produisent un hémagglutinant mannose-sensible associé au fimbriae de type 1 (épais, canalisé, de diamètre externe 7 à 8 nm) ou au fimbriae de type 3 (mince, non canalisé, de diamètre externe de 4 à 5 nm) (Lehner *et al.*, 2011).

Ce sont des structures somatiques communes chez de différentes espèces des *Enterobacteriaceae* qui ont été purifiées à partir de plusieurs espèces bactériennes incluant *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae* (Duguid et Old, 1980).

- Les sidérophores

Pour établir une infection généralisée, chaque microorganisme pathogène doit contourner le système immunitaire de l'hôte et acquérir de micro-substances nutritives importantes, comme le fer qui doit être importé et solubilisé par des systèmes de haute affinité appelés sidérophores présents en permanence chez les *Enterobacteriaceae* potentiellement pathogènes. (Grimont et Grimont, 2006).

## 5.2. Le pouvoir pathogène

*E. cloacae* est souvent impliquée dans les infections nosocomiales, elle colonise généralement la flore intestinale endogène des patients hospitalisés, comme elle peut présenter une source d'épidémie ou de diffusion d'un patient à un autre. Les infections surviennent particulièrement chez des patients traités par antibiotiques ainsi que ceux en unités de soins intensifs (Qureshi *et al.*, 2011).

C'est un agent pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier de nombreux types d'infections notamment une bactériémie, des infections des voies respiratoires et urinaires, une endocardite, des infections intraabdominales et oculaires, une arthrite septique et une ostéomyélite. Il peut causer aussi des abcès cérébraux, une pneumonie ou une méningite (Mezzatesta *et al.*, 2012).

## 5.3. Modes de transmission

La transmission peut se faire par divers dispositifs médicaux, intraveineux, les solutions d'héparine utilisées pour irriguer continuellement certains dispositifs intravasculaires et autres dispositifs hospitaliers. Plusieurs épidémies nosocomiales ont été associées à la colonisation de certains équipements chirurgicaux et solutions de nettoyage opératoire. La transmission peut s'effectuer également par le biais des travailleurs de la santé et des patients hospitalisés (Musil *et al.*, 2010).

## 6. Traitement

Parmi les grandes familles d'antibiotiques qui peuvent être administrées pour le traitement des infections à *E. cloacae* : les  $\beta$ -lactamines, les aminosides, les fluoroquinolones et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Avec la diffusion des souches d'*E. cloacae* multi-résistantes aux antibiotiques, la mise en place d'un traitement approprié peut s'avérer compliqué.

La caractéristique principale du genre *Enterobacter* est sa capacité à sélectionner des mutants résistants avec une hyper production de céphalosporinase, notamment sous traitement par C3G.

En effet, les C3G présentent une bonne activité *in vitro* mais l'émergence *in vivo* de mutants résistants peut survenir. Pour pallier à ce risque, l'utilisation des C4G représente une bonne alternative, ceci est dû au faible risque de sélection de mutants résistants hyperproducteurs d'AmpC par rapport aux C3G. Mais il est noté que les C3G et les C4G sont toutes les deux dégradées par les BLSE. Cependant Les carbapénèmes constituent les antibiotiques de premier choix dans les infections sévères dues à des souches d'*E. cloacae* productrices de BLSE.

Avec l'émergence de souches d'entérobactéries porteuses de carbapénémases (EPC), l'arsenal thérapeutique reste très limité mais il est recommandé de mettre en place une antibiothérapie adaptée qui nécessite l'utilisation d'associations à base de polymyxines, de carbapénèmes et/ou de tigécyclines (**Guérin, 2015**).

## Chapitre II : La résistance aux antibiotiques

### 1. Définition des antibiotiques

Du grec anti « contre » et bios «la vie ». Les antibiotiques sont des substances antibactériennes élaborées par des microorganismes, champignons et diverses bactéries. Elles sont soit d'origine biologique, synthétique ou semi-synthétique, capables d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (Muylaert et Mainil, 2012).

Ces substances ont le pouvoir d'inhiber (action bactériostatique) et/ou même de détruire les bactéries (action bactéricide) (Calhoun *et al.*, 2021).

#### 1.1. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques est multiple, elle peut se faire selon :

##### 1.1.1. Le mode d'action

L'antibiotique peut avoir deux actions sur la cible :

- **Action bactériostatique** : l'antibiotique provoque le ralentissement de la croissance bactérienne (exemple : Macrolides, Tétracyclines, Phénicolés).
- **Action bactéricide** : l'antibiotique provoque la destruction des bactéries avec une mort accélérée (exemple :  $\beta$ -lactamines, Aminosides, Glycopeptides, Polymyxines, Rifamycine et Fluoroquinolones).

##### 1.1.2. Le spectre d'activité

Il représente l'ensemble des bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif et permet de prévoir son potentiel ainsi que ses limites.

- **Les antibiotiques à spectre large** : Sont efficaces sur un grand nombre de types d'agents pathogènes, Ils sont utilisés lorsque la bactérie n'est pas identifiée et que la pathologie peut être due à différents types d'agents pathogènes.

- **Les antibiotiques à spectre étroit** : Sont efficaces sur un nombre limité d'agents pathogènes leur permettant de cibler une pathologie en particulier (**Boulahbel, 2009**).

### 1.1.3. L'origine de la molécule

Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et hémisynthèse.

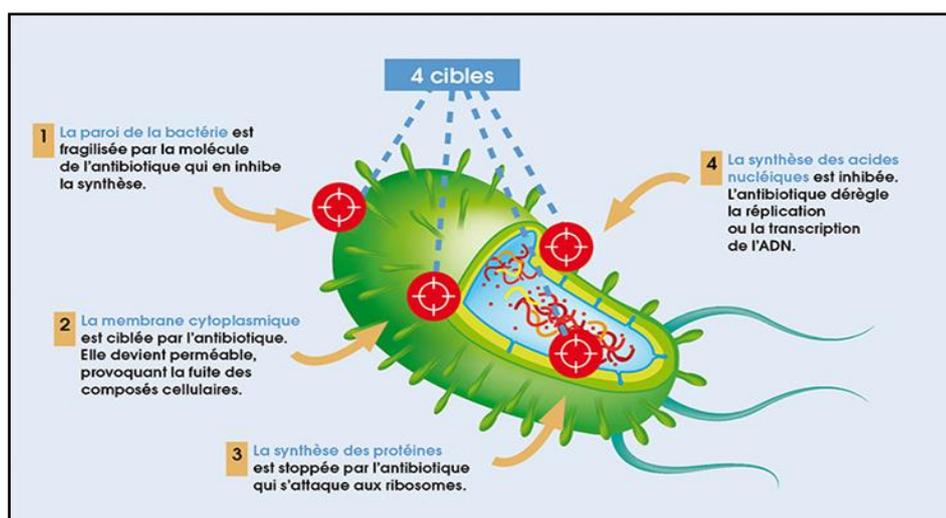
### 1.1.4. La structure chimique

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (exemple : Cycle  $\beta$ -lactame) (**Mangin, 2016**).

## 1.2. Mécanismes d'action

Un antibiotique agit essentiellement par inhibition de réaction de synthèse variée en se fixant sur des sites précis de la cellule bactérienne entraînant ainsi la perturbation de diverses réactions métaboliques. Les cibles sont caractéristiques de chaque famille d'antibiotique.

- Antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.
- Antibiotiques qui altèrent la perméabilité de la membrane cytoplasmique.
- Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique.
- Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques (**Saadaoui, 2008**).



**Figure 3.** Mécanismes d'action des antibiotiques (**Marin, 2018**)

## 2. Définition de la résistance bactérienne

La résistance bactérienne est définie comme la capacité des bactéries de survivre et de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce. La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise (**Podglajen, 2006**).

### 2.1. La résistance naturelle (ou intrinsèque ou insensibilité)

La résistance naturelle correspond à la capacité de résister à la présence d'un antibiotique c'est un caractère d'espèce qui touche toutes les souches de l'espèce considérée. Elle est portée par le chromosome, stable et transmise à la descendance (transfert verticale) lors de la division cellulaire mais elle n'est généralement pas transmissible d'une bactérie à l'autre (transfert Horizontale). Elle préexiste à l'utilisation de l'antibiotique (**podglajen, 2006**).

### 2.2. La résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capable de rendre la bactérie résistante à un antibiotique ou un groupe d'antibiotiques. Ces nouveaux gènes peuvent être obtenus soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare (résistance chromosomique) soit par l'acquisition de gènes étrangers (résistance extra-chromosomique) (**Saadaoui, 2008**).

#### 2.2.1. Résistance par mutation chromosomique

C'est un mécanisme qui peut être dû à une mutation spontanée au niveau du génome ou à une recombinaison. La mutation peut transformer la molécule cible d'un antibiotique et rendre l'interaction avec ce dernier impossible. Dans le cas d'une recombinaison, la résistance se fait par le transfert de fragments de gènes d'un endroit du chromosome à un autre, si ces fragments sont incorporés dans des endroits précis, ils sont appelés intégrons, s'ils se déplacent librement il s'agit alors de transposons (**Zogheib et Dupont, 2005**).

### 2.2.2. Résistance par acquisition des gènes étrangers (extra chromosomique)

Ces gènes peuvent être acquis par l'intermédiaire d'un plasmide ou véhiculés par des éléments génétiques mobiles appelés transposons pouvant être transférés d'une bactérie à l'autre.

On parle alors de transmission horizontale (conjugaison, transformation, transduction) (Zogheib et Dupont, 2005).

- **Conjugaison**

Dans ce phénomène, une bactérie donneuse transmet à une bactérie receveuse une copie de son plasmide porteur de gènes de résistance. Il peut s'effectuer entre bactéries de la même espèce au sein d'un même genre ou parfois entre bactéries de genres différents d'où son efficacité (Peyrou, 2001).

- **Transformation**

C'est le résultat d'un réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries provoquant alors l'apparition de nouveaux gènes de résistance. Ce processus se fait généralement entre deux bactéries de genre proche car il doit y avoir une forte analogie entre les séquences nucléotidiques pour permettre la recombinaison (Peyrou, 2001).

- **Transduction**

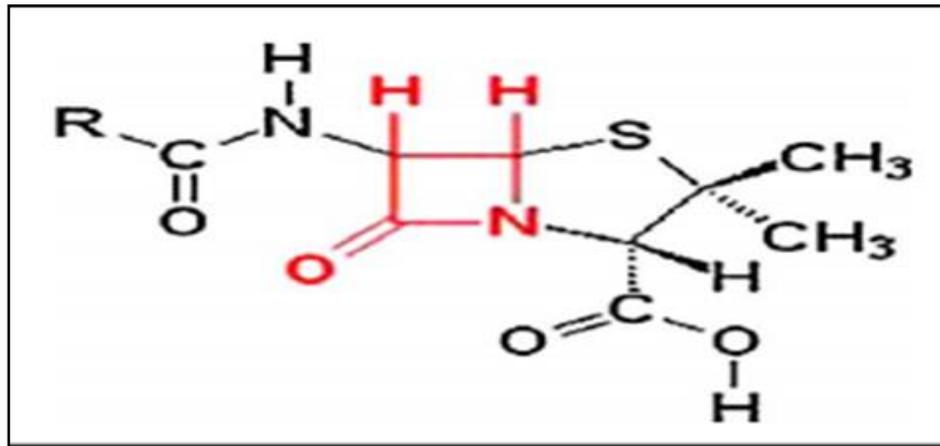
Dans ce phénomène, un bactériophage incorpore une séquence d'ADN d'une bactérie et la transmet à une autre bactérie. La transduction n'a lieu qu'entre les bactéries de la même espèce, ceci est dû à la spécificité des bactériophages (Peyrou, 2001).

## 3. La résistance d'*Enterobacter cloacae* aux antibiotiques

### 3.1. Les $\beta$ -lactamines

Les  $\beta$ -lactamines sont des antibiotiques bactéricides constituent l'une des familles d'antibiotiques les plus importantes, leur découverte remonte au début du XX<sup>ème</sup> siècle. La grande variété de leurs modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérienne, leur

bonne diffusion tissulaire, leur bonne tolérance et leur faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent l'importance de leur utilisation seuls ou en associations en thérapeutique (Cavallo *et al.*, 2004), ils représentent les antibiotiques de première ligne dans le traitement des infections causées par les entérobactéries. La famille des  $\beta$ -lactamines est constituée d'un grand nombre de molécules caractérisées par la présence d'un cycle  $\beta$ -lactame indispensable à l'activité antibiotique (Ruppé, 2010).



**Figure 4.** Structure générale des  $\beta$ -lactamines (Ruppé, 2010)

L'efficacité des  $\beta$ -lactamines dépend des facteurs suivants :

- La quantité d'antibiotique au contact de la cible.
- L'affinité de l'antibiotique pour la cible.
- La production d'enzyme inactivant l'antibiotique.

Ces facteurs sont responsables soit d'une résistance naturelle soit d'une résistance acquise (Bonnet, 2006).

### 3.1.1. Mode d'action

Les  $\beta$ -lactamines agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne, le cycle  $\beta$ -lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif des enzymes collectivement appelées PLP responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif et cause son inactivation entraînant la lyse bactérienne (Cavallo *et al.*, 2004).

### 3.1.2. La résistance aux $\beta$ -lactamines

Dans le cas des bacilles à Gram négatif, la résistance bactérienne aux  $\beta$ -lactamines est due principalement à la production d'enzymes ( $\beta$ -lactamases) capables d'hydrolyser l'anneau  $\beta$ -lactame commun à cette classe d'antibiotiques (pénicillines, céphalosporines, monobactams, carbapénèmes) (**Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006**).

Les entérobactéries sont soit naturellement sensibles aux  $\beta$ -lactamines soit naturellement résistantes soit elles ont une résistance acquise. La résistance naturelle résulte de la présence d'une céphalosporinase chromosomique appelée AmpC (enzyme de la classe C d'Ambller) qui représente le type le plus commun pour les souches d'*E. cloacae*, elle lui confère une résistance naturelle aux aminopénicillines (seules ou associées à l'acide clavulanique ou au sulbactam), aux céphalosporines de première génération et aux céphamycines lorsque l'enzyme est produite en quantité suffisante (**Cavallo et al., 2004**).

Cependant la résistance acquise aux  $\beta$ -lactamines peut résulter de mutations des gènes impliqués dans la régulation du gène ampC ou modification(s) de la structure d'AmpC, acquisition de gène(s) codant pour des  $\beta$ -lactamases ou par diminution de la perméabilité membranaire (**Guérin, 2015**).

### 3.1.3. Les BLSE « $\beta$ -lactamases à spectre élargi »

Les premières observations des espèces productrices de BLSE étaient en Europe et rapidement après aux États-Unis à partir de 1983 (**Quinn et al., 1989**).

Les  $\beta$ -lactamases sont des enzymes, constitutionnelles ou acquises, produites par les bactéries. Leur activité enzymatique provoque l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame, elles sont capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (C1G, C2G, C3G et C4G) et l'aztréonam (**Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006**).

Elles sont inhibées partiellement par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam et portées par des plasmides conjugatifs, donc transférables (**Doit et al., 2010**).

### 3.2. Les quinolones / fluoroquinolones

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides de type synthétique, découvertes en 1962 par Leshner qui a isolé l'acide nalidixique à partir d'une préparation de chloroquine destinée au traitement du paludisme. Du fait de leur bonne diffusion tissulaire, ces antibiotiques sont largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Dans les années 1980, la fluoration de ces molécules en position C6 d'où l'appellation « Fluoroquinolones », a permis d'étendre leur spectre d'activité selon la génération de la molécule aux coques à Gram positif, aux bactéries intracellulaires et aux anaérobies (**Meradi *et al.*, 2011**).

#### 3.2.1. Mode d'action

Les quinolones inhibent l'action des topoisomérases de type II : l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. Ils se fixent sur la sous unité A de la gyrase empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien (cible préférentielle des bactéries à Gram négatif) (**Meradi *et al.*, 2011**).

Tandis que les fluoroquinolones (quinolones de deuxième génération) ont un spectre d'activité élargi qui recouvre les bactéries à Gram négatif et les cocci à Gram positif. Les fluoroquinolones de troisième génération ont été développées pour étendre le spectre à *Streptococcus pneumoniae*, alors que les fluoroquinolones de quatrième génération, présentent une activité accrue sur les bactéries anaérobies strictes (**Cattoir, 2012**).

#### 3.2.2. La résistance aux quinolones / fluoroquinolones

La résistance aux quinolones est principalement due à des mutations chromosomiques, ces mutations sont localisées sur des gènes qui conduisent soit à :

- La perte d'affinité de l'antibiotique pour sa cible ceci est dû à une modification de l'ADN gyrase et/ou de la topoisomérase IV par mutations ponctuelles.
- Une augmentation de son excrétion hors du cytoplasme (par surexpression des systèmes d'efflux).
- Une diminution de sa pénétration transmembranaire (par déficit quantitatif ou qualitatif de la synthèse des porines) (**Nordmann et Mammeri, 2007**).

### 3.3. Les aminosides

Les aminosides également appelés aminoglycosides sont des antibiotiques bactéricides, hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémi-synthétiques (**Yala *et al.*, 2001**).

Ils sont réservés au traitement des infections sévères à bactéries à Gram négatif et à staphylocoques notamment dans leurs manifestations pulmonaires, endocardites, rénales et bactériémiques. Ils sont souvent employés dans le traitement probabiliste de ces infections en association avec une  $\beta$ -lactamine ou une fluoroquinolone (**Martin, 2008**).

#### 3.3.1. Mode d'action

Les aminosides agissent sur les bacilles à Gram négatif aérobies notamment les entérobactéries et sur les bacilles à Gram positif. Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne (**Yala *et al.*, 2001**).

#### 3.3.2. La résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides est attribuée à l'acquisition d'enzymes codées par des gènes portés par des plasmides ou des éléments génétiques transposables. Comme pour les autres entérobactéries, trois groupes d'enzymes sont impliquées : les acétyltransférases (AAC), les phosphotransférases (APH) et les adényltransférase (ANT) (**Guérin, 2015**). Chaque classe de ces enzymes effectue une réaction régio-spécifique soit sur le groupe amine (AAC) ou un groupe hydroxyle (ANT et APH) et les produits de ces réactions sont dépourvus d'activité antibactérienne (**Chen *et al.*, 2008**).

### 3.4. La tigécycline

La tigécycline est un antibiotique bactériostatique dérivé de la monocycline qui appartient au groupe des glycylicyclines une troisième génération de tétracycline dont les molécules restent actives contre les bactéries résistantes à la tétracycline (**Stahl, 2005**). Elle possède un spectre très large comprenant l'ensemble des cocci à Gram positif, en particulier staphylocoque et entérocoque, ainsi qu'une grande partie des bacilles à Gram négatif et des anaérobies (**Gauzit et Friggeri, 2017**).

### 3.4.1. Mode d'action

Les tigécyclines bloquent la croissance bactérienne en inhibant la synthèse protéique des bactéries en se fixant sur la sous-unité ribosomale 30S et en bloquant l'entrée de l'ARNt aminoacyl dans le site A du ribosome. Ceci empêche l'incorporation des résidus d'acides aminés dans les chaînes peptidiques en formation (**Gauzit et Friggeri, 2017**).

### 3.4.2. La résistance aux tigécyclines

La grande majorité des entérobactéries dont *E. cloacae* sont sensibles à la tigécycline (**Gauzit et Friggeri, 2017**).

Cependant, quelques souches présentant une sensibilité diminuée ont été rapportées, ceci dû à la surexpression du système de pompe d'efflux. La surexpression de cette pompe est corrélée à celle d'un régulateur transcriptionnel ramA (**Guérin, 2015**).

La tigécycline pourrait être un antibiotique intéressant dans les infections sévères ou dans lesquelles des bactéries résistantes sont suspectées (**Stahl, 2005**).

## 3.5. Les polymyxines

Les polymyxines sont des antibiotiques à spectre d'activité antibactérien étroit limité aux bactéries à Gram-négatif, ils sont naturellement produits par différentes espèces de *Paenibacillus (Bacillus) polymyxa*. Cinq classes chimiques (A, B, C, D et E) sont décrites mais seuls deux composés sont utilisés en thérapeutique : la polymyxine B et la polymyxine E (ou colistine). Ce sont des polypeptides cationiques constitués d'un cycle de 7 acides aminés et d'une chaîne latérale tripeptidique sur laquelle est lié de façon covalente un acide gras. La polymyxine B diffère de la polymyxine E par un seul acide aminé en position 6 où la D-phénylalanine de la polymyxine B est remplacée par une D-leucine chez la colistine (**Dortet et al., 2016**).

### 3.5.1. Mode d'action

Les polymyxines ciblent le lipopolysaccharide (LPS) bactérien, composant de la membrane externe des bacilles à Gram négatif. Le (ou les) mécanisme(s) d'action des polymyxines ne sont pas totalement élucidés. Cependant, d'après les données de la littérature

les polymyxines pourraient agir selon trois modes distincts et concomitants aboutissant à la mort de la bactérie :

- Lyse des membranes bactériennes (voie principale).
- Contact vésicule-vésicule.
- Formation de radicaux libres.

De plus, une activité anti-toxinique a été décrite : en se fixant au LPS, les polymyxines neutralisent le lipide A, composé toxique permettant l'ancrage du LPS dans la membrane externe (**Dortet *et al.*, 2016**).

### **3.5.2. La résistance aux polymyxines**

Les bactéries à Gram négatif ont mis au point divers mécanismes de résistance. Une des stratégies les plus utilisées correspond à des modifications du LPS. Ces modifications ont toutes pour but de diminuer la charge négative du LPS, essentiellement via l'ajout de résidus chargés positivement entraînant ainsi une répulsion des polymyxines elles-mêmes chargées positivement. D'autres stratégies sont également utilisées comme la synthèse d'une capsule ou l'expression de certaines pompes d'efflux (**Volkov *et al.*, 2013**).

Résultats et  
discussions de  
l'étude statistique

## **1. Matériel**

### **1.1. Centre de l'étude**

Notre étude a été menée au sein du laboratoire de microbiologie de l'EPH El bir Constantine.

### **1.2. Duré et type de l'étude**

Il s'agit d'une étude rétrospective des trois années (2018, 2019 et du premier semestre de 2020) basée sur l'interprétation des résultats à partir des données recueillies des registres et des fiches d'antibiogrammes archivés au niveau du laboratoire de microbiologie.

### **1.3. Nature des prélèvements étudiés**

Durant la période de notre étude, un total de 12 souches a été isolé de différents prélèvements :

- Pus (des plaies infectées, plaies infectées post-opératoires, pied diabétique, infections du site opératoire, abcès ombilical et le pus d'oreille).
- Urines (ECBU).

### **1.4. Services et origines des souches**

Les prélèvements ont été adressés par les différents services de l'hôpital provenant des patients hospitalisés dans les différents services de l'hôpital à savoir : chirurgie, médecine interne, contagieux (CTX), ou consultant à titre externe.

## **2. Méthodes**

### **2.1. Identification biochimique par galerie classique**

L'identification biochimique par la galerie classique est un examen qui permet d'identifier une souche bactérienne en s'appuyant sur son métabolisme enzymatique et la mise en évidence d'un substrat dégradé ou d'un métabolite formé. Elle est essentiellement utile pour la différenciation des entérobactéries. La réalisation de cette identification se fait par une méthode

classique en utilisant des tubes à essai contenant des milieux de cultures spécifiques (solide, semi solide et liquide) (Annexe).

## **2.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)**

### **2.2.1. Technique**

Une ou plusieurs boîte(s) selon les cas, contenant le milieu Mueller-Hinton spécifiquement destiné à cette méthode sont inoculées par écouvillonnage à l'aide de la suspension bactérienne. Les disques imprégnés d'antibiotiques sont alors disposés à la surface de la gélose et l'antibiotique diffuse très rapidement de manière concentrique autour de chaque disque. Les boîtes peuvent alors être mises en incubation à 37°C dans les conditions requises (atmosphère ambiante, sous tension réduite en O<sub>2</sub> et en anaérobiose).

Les résultats sont exprimés en millimètres après lecture des diamètres des zones d'inhibition de la culture autour de chaque disque manuellement et sont interprétés en trois catégories :

S= Sensible, R= Résistant, et I= Intermédiaire, en se référant aux normes du CLSI. La lecture consiste à mesurer les diamètres d'inhibition.

### **2.2.2. Les antibiotiques testés**

Les antibiotiques testés lors de la réalisation de l'antibiogramme d'*E. cloacae* ont été choisis selon des critères d'écologie bactérienne et/ou du coût et/ou de la toxicité et sont représentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 3.** Les antibiotiques testés pour l'antibiogramme

Familles et sous familles		Antibiotiques
<b>β-lactamines</b>	Pénicillines A	Ampicilline ( <b>AMP</b> )
		Amoxicilline ( <b>AMX</b> )
		Amoxicilline +A. clavulanique ( <b>AMC</b> )
	Carboxypénicillines	Ticarcline ( <b>TIC</b> )
	Ureïdopénicillines	Pipéracilline ( <b>PIP</b> )
	C1G	Céfazoline ( <b>CZ</b> )
	C2G	Céfoxitine ( <b>FOX</b> )
	C3G	Céfotaxime ( <b>CTX</b> )
		Céfopérazone ( <b>CFP</b> )
		Céftazidime ( <b>CAZ</b> )
Carbapénèmes	Imipénème ( <b>IPM</b> )	
<b>Aminosides</b>	Gentamycine ( <b>GEN</b> )	
	Kanamycine ( <b>KAN</b> )	
	Amikacine ( <b>AN</b> )	
<b>Tétracycline</b>	Tétracycline ( <b>TET</b> )	
<b>Quinolones / Fluoroquinolones</b>	Acide Nalidixique ( <b>NAL</b> )	
	Ciprofloxacine ( <b>CIP</b> )	
	Pefloxacine ( <b>PEF</b> )	
	Norfloxacine ( <b>NOR</b> )	
	Ofloxacine ( <b>OFX</b> )	
<b>Polymixines</b>	Colistine ( <b>CS</b> )	
<b>Divers</b>	Bactrim ( <b>TMP-SMX</b> )	
	Chloramphénicol ( <b>C</b> )	

*Résultats de l'étude*

*statistique*

## 1. Répartition des données

### 1.1. Répartition des données selon l'origine

Dans notre étude rétrospective des trois années précédentes (2018, 2019 et du premier semestre de l'année 2020), 12 souches d'*Enterobacter cloacae* ont été isolées et les souches hospitalières sont prédominantes avec une fréquence de 67% contre 33% pour les souches externes comme le montre la figure 5.

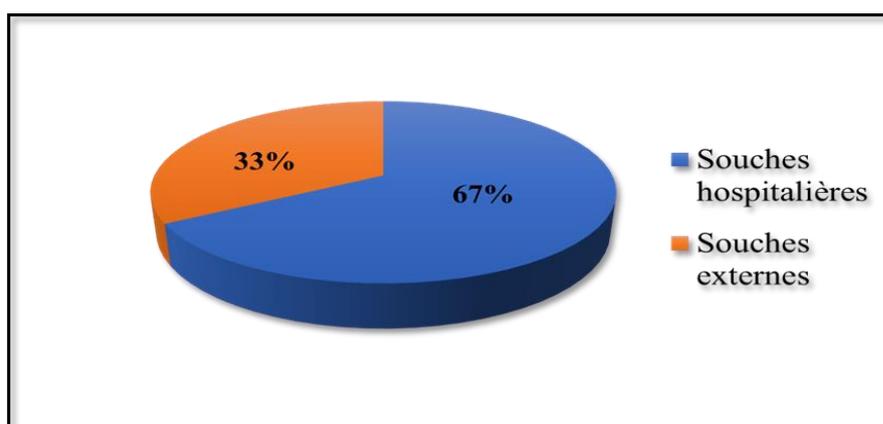


Figure 5. Répartition des souches isolées selon l'origine (n=12)

### 1.2. Répartition des souches isolées selon les services

Comme l'indique la figure 6 le service contagieux et les consultants à titres externes déterminent les taux les plus élevés avec 34% et 33% suivi par la chirurgie avec un taux de 25%, tant dis que le taux le plus bas de 8% a été trouvé dans le service de la médecine interne.

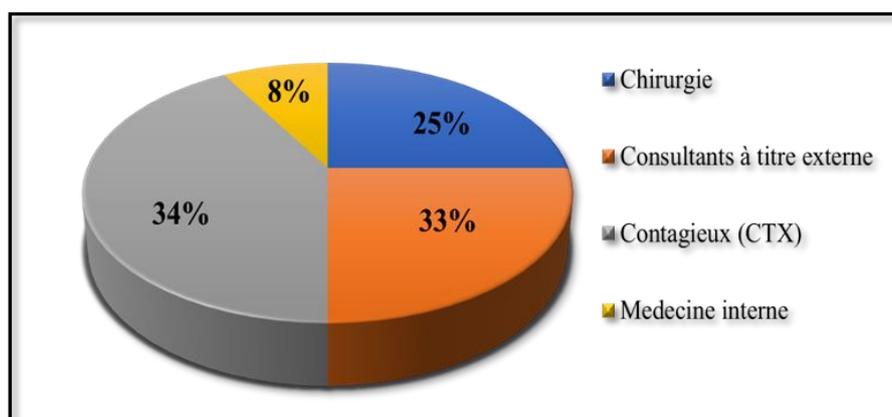


Figure 6. Répartition des souches isolées selon le service (n=12)

### 1.3. Répartition des souches isolées selon la nature des prélèvements

La figure 7 indique que la majorité des souches d'*E. cloacae* ont été isolées à partir du pus (de différentes origines) avec un taux élevé de 67% alors que la minorité ont été isolées à partir des urines (ECBU) avec un taux de 33%.

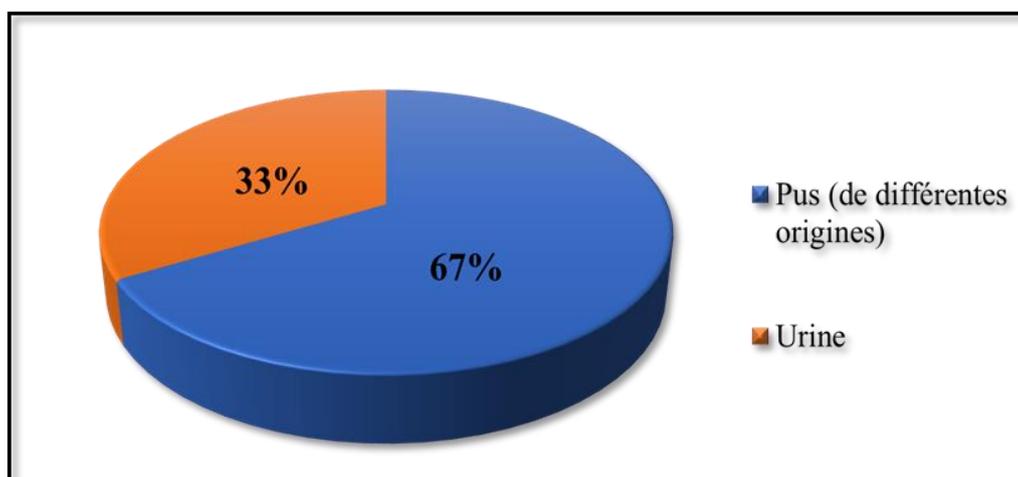


Figure 7. Répartition des souches isolées selon la nature des prélèvements (n=12)

### 1.4. Répartition des données selon l'âge des patients

La figure 8 montre que le taux d'isolement des souches d'*E. cloacae* le plus élevé a été observé chez les adultes âgés de plus de 50 ans avec un taux de 75%, cependant les adultes de moins de 50ans sont les moins touchés avec un taux de 25%.

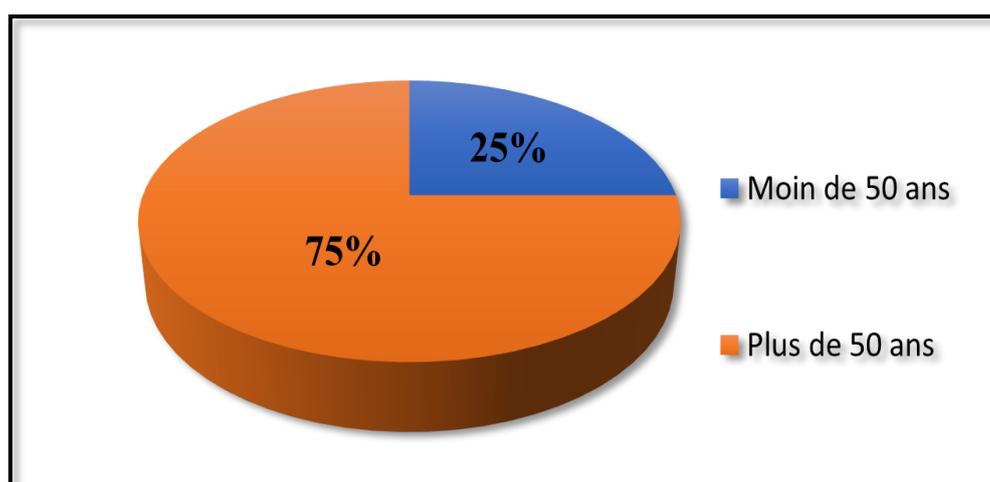
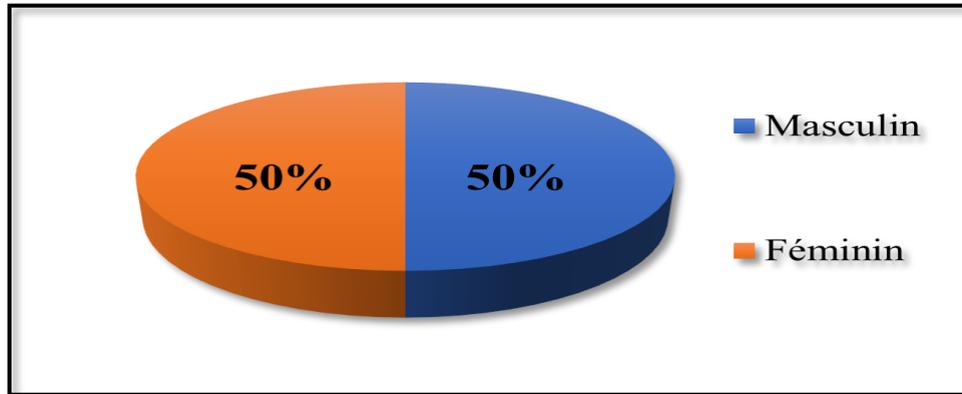


Figure 8. Répartition des souches isolées selon l'âge (n=12)

### 1.5. Répartition des données selon le sexe des patients

Comme montré dans la figure 9, les patients du sexe masculin et féminin sont touchés avec une même fréquence de 50% avec un sexe ratio (H/F) de 1.



**Figure 9.** Répartition des souches isolées selon le sexe (n=12)

## 2. Résultats de l'antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme des 12 souches isolées d'*E. cloacae* sont exprimés dans le tableau suivant :

**Tableau 4.** Résultats de l'antibiogramme (n=12)

Souches Antibiotiques	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10	S 11	S 12
	AMP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AMX	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AMC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TIC	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S
PIP	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S
CZ	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
FOX	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R
CTX	S	S	S	R	S	S	S	R	S	R	R	S
CFP	S	S	S	R	S	R	S	R	S	R	R	S
CAZ	S	S	S	R	S	S	S	R	S	R	R	S
IPM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
GEN	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	R	S
KAN	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AN	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
C	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
NAL	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
TMP-SMX	S	S	R	S	R	S	S	R	S	R	R	S
CS	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
PEF	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
NOR	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
TET	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
OFX	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S

Le tableau 5 ci-dessous montre le nombre des souches d'*E. cloacae* résistantes et sensibles vis-à-vis les différents antibiotiques testés.

**Tableau 5.** Nombre de souches résistantes et sensible vis-à-vis des différents antibiotiques testés (n=12)

Antibiotiques \ Nombre de souches	Nombre de souches sensibles	Nombre de souches résistantes
AMP	0	12
AMX	0	12
AMC	0	12
TIC	5	7
PIP	5	7
CZ	1	11
FOX	2	10
CTX	8	4
CFP	7	5
CAZ	8	4
IPM	12	0
GEN	8	4
KAN	12	0
AN	11	1
C	11	0
NAL	10	2
TMP-SMX	7	5
CS	12	0
CIP	10	2
PEF	10	2
NOR	10	2
TET	0	12
OFX	10	2

### 3. Profil de résistance et de sensibilité des souches isolées

Sur la totalité des souches étudiées l'analyse du profil de résistance d'*E. cloacae* a montré un taux de résistance de 100% vis-à-vis les antibiotiques suivants : l'Ampicilline, l'Amoxicilline, l'Amoxicilline + Acide clavulanique ainsi qu'à la Tétracycline, 92% à la Céfazoline, 83% à la Céfoxitine, 58% à la Pipéracilline et la Ticarcilline, 42% à la Céfopérazone et au Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, 33% pour la Céfazidime et la Gentamycine. Alors qu'il y avait une faible résistance aux restes des antibiotiques testés.

L'Imipénème, la Kanamycine et la Colistine, étaient les antibiotiques les plus actifs sur la totalité des souches d'*E. cloacae* où 0% de résistance a été observée et donc ils peuvent être des alternatives thérapeutiques (Figure 10).

*E. cloacae* présente une résistance à la majorité des  $\beta$ -lactamines ainsi qu'aux C3G (CTX, CAZ) ce qui indique la présence des BLSE avec un pourcentage de 30%.

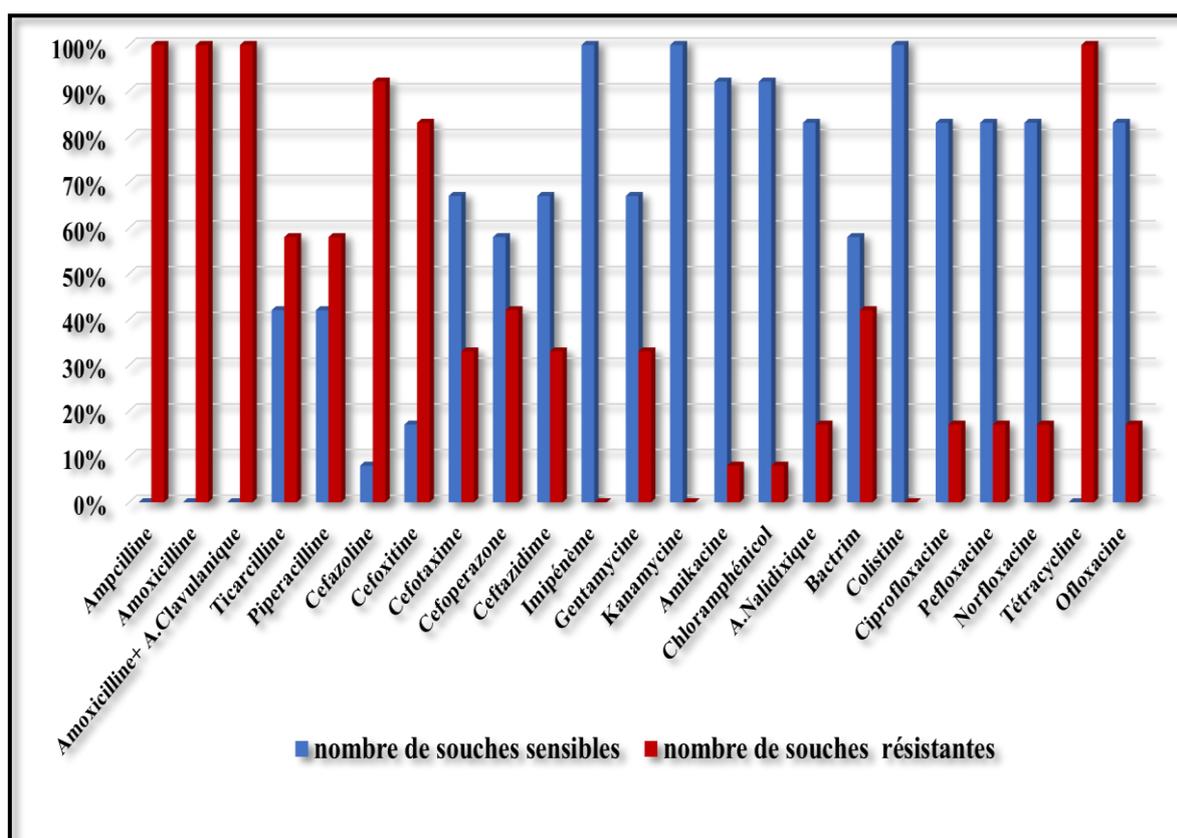


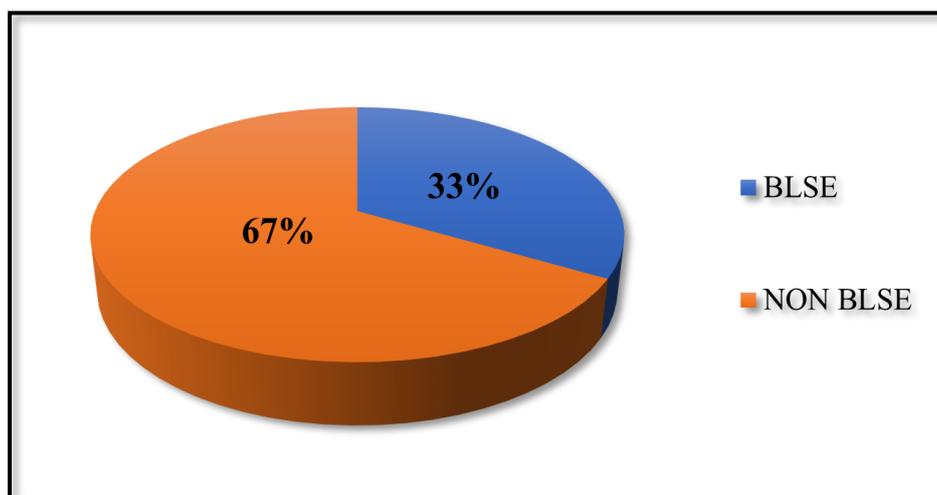
Figure 5. Profil global de résistance des souches isolées (n=12)

### 3.1. Production de BLSE

Les quatre souches productrices de BLSE (S4, S8, S10, S11) extraites à partir du tableau 4, en plus de leur résistance aux C3G (CTX et CAZ) présentent également des résistances associées : la souche 4 présente une résistance associée à la TET, la souche 8 est une CHN (puisqu'elle est résistante au CTX et au FOX), la souche 10 présente une résistance associée à l'association TMP-SMX, à la CIP, à la PEF, à la NOR, à la TET et à l'OFX (c'est une BMR par excellence), la souche 11 est pareil et en plus elle est résistante à NAL.

Ces BLSE présentent des résistances multiples et donc posent un problème thérapeutique très important.

Les souches productrices de BLSE représentent un taux de 33% comme montré dans la figure 11.



**Figure 6.** Production des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (n=12)

*Discussion de  
l'étude statistique*

Les entérobactéries dont *Enterobacter cloacae* sont responsables de nombreuses infections qui deviennent très répandues et constituent actuellement une menace sérieuse de santé publique à l'échelle mondiale.

La détermination de la source de contamination et du mode de transmission des souches épidémiques est l'un des soucis majeurs dans les investigations des épidémies d'infections nosocomiales (**Fraser et al., 2010**).

Selon les résultats de notre étude, les 12 souches isolées et identifiées par la galerie classique sont réparties différemment selon :

La fréquence de l'infection par *E. cloacae* en général, semble augmenter avec l'âge ceci a été confirmé par notre étude où on assiste à des taux élevés d'atteinte infectieuse chez les patients âgés de plus de 50 ans avec un pourcentage de 75%, cela peut être expliqué par l'altération des mécanismes de défenses liés au processus de vieillissement.

Nos résultats sont conformes avec ceux de l'étude faite en 2016 par Khennouchi qui a trouvé que la tranche d'âge la plus touchée parmi les quatre tranches étudiées était celle de plus 50 ans avec un pourcentage de 45% à l'est Algérien, et de 40% à Marseille, France. Donc il existe un rapport entre le risque infectieux et l'âge (**Khennouchi, 2016**).

Les résultats de notre étude montrent que les patients de sexe masculin et féminin sont touchés avec une même fréquence de 50% pour chacun, contrairement aux résultats de Khennouchi qui a observé que la plupart des patients infectés par *E. cloacae* était des femmes avec des fréquences de 65% à l'est algérien et 51% à Marseille alors que les hommes étaient les moins touchés avec des fréquences de 35% à l'est algérien et 49% à Marseille. Ce qui confirme les résultats des enquêtes françaises de la prévalence des infections nosocomiales qui ont approuvés que le sexe est considéré comme un critère physiologique sans influence sur les infections liées aux soins (**Khennouchi, 2016**).

Nous avons noté que parmi les 12 souches isolées le pus constitue le spécimen le plus répondu dans les infections à *E. cloacae* avec 67% suivi par les urines avec 33%, ce qui ne concorde pas avec les résultats rapportés par Khennouchi qui a trouvée qu'à l'est algérien 71% des souches ont été isolées à partir des urines et 29% à partir du pus, alors qu'à Marseille, France

les souches ont été isolées à partir du pus et des urines avec une même fréquence de 50% (**Khennouchi, 2016**).

Les données de notre étude montrent que les souches hospitalières sont prédominantes avec 67% dont les services sont répartis comme suit : le service de l'infectieux détermine le pourcentage le plus élevé de souches avec 34% suivi par le service de la chirurgie avec 25% puis le service de la médecine interne avec 8%, cependant une minorité de 33% a été observé chez les consultants à titre externe (TA). Par contre l'étude réalisée à l'hôpital de Tlemcen, Sidi Bel Abbes et Oran a démontré que les *E. cloacae* ont été retrouvés dans tous les types de services des trois hôpitaux avec une prédominance des souches isolées dans les unités de soins intensifs : 35.2% de souches ont été isolées au niveau de la réanimation du CHU de Sidi Bel Abbes, 70.6% au niveau de la réanimation de Tlemcen et 35.8%, 18.9% et 17% dans les trois services de réanimation médicale, UMC et infantile d'Oran (**Souna, 2015**).

La résistance bactérienne aux antibiotiques est la résultante d'interactions complexes entre la bactérie et son environnement. Elle est liée essentiellement à l'usage abusif des antibiotiques contribuant ainsi à l'émergence et à la diffusion de certains bacilles à Gram négatif en particulier les souches d'entérobactéries, dont *Enterobacter cloacae*, résistantes à un grand nombre d'antibiotiques.

Les niveaux de résistances bactériennes varient d'un pays à l'autre et d'une année à l'autre. Aussi, la connaissance de la situation locale et de son évolution sont nécessaires pour le choix de l'antibiothérapie de première intention (**El Bakkouri et al., 2009**).

Les  $\beta$ - lactamines étaient depuis longtemps couramment utilisées dans le traitement des infections à entérobactéries. Actuellement, l'augmentation de la résistance à cette famille d'antibiotiques est de plus en plus inquiétante.

L'étude de la sensibilité des 12 souches isolées a indiqué que 100% des souches d'*E. cloacae* possèdent une résistance naturelle vis-à-vis l'Ampicilline, l'Amoxicilline et a l'association de l'Amoxicilline avec l'Acide clavulanique à l'exception de l'Imipénème qui reste actif sur toutes les souches ce qui concorde avec les résultats rapportés par Khennouchi en 2016 et se rapproche aux résultats de Souna en 2015 qui a observé une faible résistance à l'Imipénème (6.3%) (**Souna, 2015 ; Khennouchi, 2016**).

Des niveaux de résistance assez importants ont été observés pour la Ticarcilline et la Piperacilline (58%) ainsi qu'à la Céfazoline qui est une céphalosporine de première génération (92%) et la Céfoxitine une céphalosporine de la deuxième génération (83%).

En ce qui concerne les céphalosporines de la troisième génération, les entérobactéries dont *E. cloacae* résistantes à ces dernières occupent une place importante dans les infections nosocomiales.

Les résultats de notre étude ont montré que le taux de résistance des souches d'*E. cloacae* aux céphalosporines de troisième génération est estimé à 36% ce qui est presque identique aux résultats de l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé en France (35,74 %) (**Daniau et al., 2017**).

A l'opposé, l'étude de la sensibilité d'*E. cloacae* aux C3G, montrait des taux élevés de résistance soit 65.4%, au CHU de Sidi Bel Abbes en Algérie (**Souna, 2011**) et 60% à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V au Maroc (**Elouennass et al., 2008**).

Dans notre étude La Kanamycine demeure la molécule la plus efficace avec 100% de souches sensibles suivie par l'Amikacine (92%) et la Gentamycine (67%), cependant l'étude faite par Souna a montré que l'Amikacine était la molécule la plus active sur la totalité des souches avec un taux de 92,4% (**Souna, 2015**).

Nos résultats ont montré un même faible taux de résistance des souches vis-à-vis de tous les antibiotiques testés de la famille des Quinolones et des Fluoroquinolones (17%) ce qui ne concorde pas avec l'étude de Souna montrant une activité moyenne (48.73%) (**Souna, 2015**).

Dans nos résultats une activité faible a été détectée pour le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (Bactrim) avec 42%. Ce taux reste inférieur à ceux décrits par Souna en 2015 (57%) et Khennouchi (66.6%). En revanche ces taux restent supérieurs à celui décrit à Marseille (14%) (**Khennouchi, 2016**).

Par ailleurs, 100% des souches ont montré une résistance totale vis-à-vis la Tétracycline.

D'après nos résultats la Colistine conserve encore une bonne efficacité et reste parmi les antibiotiques les plus actifs sur cette espèce avec 100% de souches sensibles, qui correspond

aux résultats obtenus par Mezghani Maalej et al. En 2012 (**Mezghani Maalej et al., 2012**), Souna en 2015 et Khennouchi en 2016 (**Souna, 2015 ; Khennouchi, 2016**).

En effet, c'est l'une des molécules gardant les taux de sensibilité les plus élevés sur les espèces naturellement sensibles (**Hamze et al., 2003**).

La recherche des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi est une étape essentielle dans la décision thérapeutique dans le but d'une surveillance épidémiologique, permettant d'éviter tout échec ainsi que l'extension des épidémies sur tout chez les patients recevant des traitements à base de  $\beta$ -lactamines et aux C3G.

Dans notre étude 33% des souches collectées sont productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE), cette valeur est nettement plus faible que celle rapportées à l'hôpital de Sidi Bel Abbas (55.5%) (**Souna, 2015**) et à l'est Algérien (66,6%) mais elle est plus proche que celle rapportée à Marseille (30%) (**Khennouchi, 2016**).

# Conclusion

*Enterobacter cloacae* a pris une importance croissante du fait de son implication dans les infections des services de soins intensifs, elle est aussi retrouvée parmi les souches cliniques responsables d'infections et d'épidémies hospitalières, cependant le principal problème en pratique clinique réside dans la diffusion de souches d'*Enterobacter cloacae* résistantes aux antibiotiques (**Guérin 2015**).

Pour évaluer le degré de résistance d'une bactérie aux antibiotiques des tests de sensibilité permettent d'évaluer *in vitro* l'efficacité de ces molécules le plus connu étant l'antibiogramme qui donne des résultats sous forme qualitative en classant la bactérie comme sensible, résistance ou de sensibilité intermédiaire pour chaque antibiotique testé (**Peyrou 2001**).

Dans ce travail nous avons effectué une étude rétrospective des années 2018, 2019 et du premier semestre de l'année 2020, basée en premier lieu sur l'identification de 12 souches d'*Enterobacter cloacae* suivie de la répartition de ces souches selon des critères bien définis et enfin la détermination du profil de résistance aux antibiotiques de ces germes isolés.

Notre étude montre que les infections à *E. cloacae* sont majoritairement contractées à l'hôpital et que les adultes de plus de 50 ans sont les plus touchés.

Les résultats de l'étude du profil de résistance ont permis de constater une résistance élevée d'*E. cloacae* vis-à-vis les antibiotiques testés avec 4 souches productrices de BLSE.

Certains antibiotiques ont perdu leur place dans le traitement des infections à *E. cloacae*, comme l'Ampicilline, l'Amoxicilline, l'Amoxicilline + Acide clavulanique, ainsi qu'à la Tétracycline cependant d'autres antibiotiques comme la Kanamycine, l'Imipenème et la Colistine restent majoritairement plus actifs ce qui laisse espérer qu'ils peuvent être des alternatives en antibiothérapie contre les infections causées par cette bactérie.

La propagation du phénomène de résistance et le nombre limité d'antibiotiques nécessitent la découverte de nouveaux agents antibactériens. Pour être innovant et contourner les mécanismes de résistance bactériens, les antibiotiques de demain devront viser de nouvelles « cibles » d'action chez les bactéries.

Dans le futur, il serait recommandé de :

- ✓ Respecter les règles d'hygiène individuelles et collectives ainsi que l'isolement des malades porteurs de bactéries multirésistantes.

- ✓ L'usage rationnel des antibiotiques.
- ✓ Sensibiliser la population à éviter l'automédication qui constitue un risque des échecs thérapeutiques et facilite l'émergence des résistances bactériennes.
- ✓ Mettre en place un réseau de surveillance des bactéries résistantes.

En perspectives :

- ✓ IL serait intéressant de réaliser une étude sur la prévalence d'*E. cloacae* dans les différents hôpitaux de Constantine.
- ✓ Faire une étude comparative de la résistance aux antibiotiques.
- ✓ Etudier les mécanismes de la multirésistance aux antibiotiques des souches d'*E. cloacae* et réaliser une caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques.
- ✓ Mener une étude sur la détection des gènes de résistances aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*.

Références

Bibliographiques

- **Aguesse, C** (2020). Prescription d'antibiotiques chez l'enfant en médecine générale. Évaluation des pratiques concernant les infections urinaires et respiratoires basses. Thèse de doctorat : Médecine générale. Marseille : Université de Marseille, 39-40 p.
- **Bonnet, R** (2006)  $\beta$ -lactamines et entérobactéries. Dans : **Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E.** Antibiogramme. Editions ESKA. Paris. 141 p.
- **Bousseboua, H**, 2005. Eléments de Microbiologie : Constantine : Edition Campus-club. 215 p.
- **Calhoun, C., Wermuth, H.R., Hall, G. A** (2021). Antibiotics. *StatPearls* [en ligne], (Consulté le 11/07/2021) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535443/>
- **Cattoir, V** (2012). Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue francophone des laboratoires*, (445), 79-80
- **Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., Garrabé, E** (2004). Bêtalactamines. *EMC-Maladies Infectieuses*, 1. 129-141-157
- **Chen, L., Hainrichson, D., Bourdetsky, M., Mor, A., Yaron, S., Baasov, T** (2008). Structure–toxicity relationship of aminoglycosides : Correlation of 2' -amine basicity with acute toxicity in pseudo-disaccharide scaffolds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16. (19), 8940
- **Daniau, C., Léon, L., Carbonne, A.B** (2018). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, Saint-Maurice : *Santé publique France*, 2019. 87 p. Disponible sur : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/infections-associees-aux-soins/documents/enquetes-etudes/enquete-nationale-de-prevalence-des-infections-nosocomiales-et-des-traitements-anti-infectieux-en-etablissements-de-sante-mai-juin-2017>
- **Delarras, C**, 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Paris : Edition Techniques et Documentation. 247 p.
- **Doit, C., Mariani-Kurkdjian, P., Bingen,** (2010). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu. *Archives de Pédiatrie*, 17, 141
- **Duguid, J. P., Old D.C** (1980) Adhesive Propeties of *Enterobacteriaceae*. Dans : **chapman., Hall.** Bacterial Adherence. Beachey, E.H. London. 187-206 p.

- **El Bakkouri, J., Bélâbre, H., Zerouali, K., Belaiche, A., Messaouidi, D., Gros Claude, J. D. P., El Mdaghri, N** (2009). Résistance aux Antibiotiques d'*Escherichia coli* Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca (Maroc). *European Journal of Scientific Research*, 36. (1), 52
- **Elouennass, M., Sahnoun, I., Zrara, A., Bajjou, T., Elhamzaoui, S** (2008). Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002– 2005). *Médecine et maladies infectieuses*, 38. 21
- **Grimont, F., Grimont P.A.D** (2006). The Genus *Enterobacter*. *Prokaryotes*, 6. 205-207
- **Guérin, F** (2015). Infections à *Enterobacter cloacae* complex : résistance aux antibiotiques et traitement. *Journal des anti-infectieux*, 17. (3), 1-9
- **Guinoiseau, E** (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat : Biochimie - Biologie moléculaire. France : Université de Corse, 2 p.
- **Hamze, M., Dabboussi, F., Izard D** (2003). *Enterobacterial* susceptibility to antibiotics in northern Lebanon (1998-2001). Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé, 13. (2),107-12
- **Hart, C.A** (2006) *Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter* and *Serratia* spp. Dans : **Gillespie, S.H. et Hawkey, P.M.** Principles and practice of Clinical Bacteriology Second Edition. John Wiley & Sons Ltd. England. 382 p.
- **Henniche, F.Z., Bouguessa, N** (2009) les antibiotiques. Dans : **Boulahbal, F.** Manuel de Microbiologie. Office des publications universitaires. Alger. 91,103 p.
- **Hormaeche, E., Edwards, P.R** (1960). A proposed genus *Enterobacter*. *International bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy*, 10. (2), 71-73
- **Khennouchi, N** (2016). Evaluation de l'antibiorésistance du genre *Enterobacter* aux antibiotiques. Thèse de doctorat : Microbiologie Appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, 59-69/ 101-107 p.
- **Le Minor, L., Véron, M,** 1989. Bactériologie médicale. Paris : Flammarison Médecine-science. 393, 432-434 p.
- **Lehner. A., Roger. S., Fanning. S., Iversen. C** (2011) *Enterobacter*. Dans : Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens. USA, CRC, pp : 853-863.

- **Mangin, L** (2016). Antibiotiques et résistances : Enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse de doctorat : Pharmacie. Lorraine : Université de Lorraine, 5-6 p.
- **Marin, J.S.** Mécanismes d'action des antibiotiques. (14/02/2018). [Image] dans *information-dentaire.fr*. Disponible sur : < <https://www.information-dentaire.fr/formations/evitons-labus-d-antibiotiques%E2%80%89/> > (Consultée le 13/07/2021).
- **Markus Atong.** *Enterobacter cloacae* colony characteristics. (Jul 2016). [Photo] In *ResearchGate*. Disponible sur : < [https://www.researchgate.net/figure/Enterobacter-cloacae-colony-characteristics-A-Nutrient-agar-A1-Colony-form-in\\_fig3\\_305656011](https://www.researchgate.net/figure/Enterobacter-cloacae-colony-characteristics-A-Nutrient-agar-A1-Colony-form-in_fig3_305656011) > (Consulté le 06/05/2021).
- **Martin C.** (2008). Urgences et infections : Guide du bon usage des antibiotiques, antifongiques, antiviraux, antiseptiques. Edition Arnette, 41-42
- **Meradi, L., Djahoudi, A., Abdi, A., Bouchakour, M., Claude, J-DPG., Timinouni, M** (2011). Résistance aux quinolones de types qnr, aac (6') -Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie biologique*, 59. (4), 74
- **Mezghani Maalej, S., Rekik Meziou, M., Mahjoubi, F., Hammami, A** (2012). Epidemiological study of *Enterobacteriaceae* resistance to colistin in Sfax (Tunisia). *Médecine et maladies infectieuses*, 42. (6), 256–263
- **Mezzatesta, M.L., Gona, F., Stefani, S** (2012). *Enterobacter cloacae* complex : clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiol*, 7. (7), 890
- **Musil, I., Jensen, V., Schilling, J., Ashdown, B., Kent, T** (2010). *Enterobacter cloacae* infection of an expanded polytetrafluoroethylene femoral–popliteal bypass graft : a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 4. (131),1
- **Muylaert, A., Mainil, J.G** (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét*, 156.110
- **Nordmann, P., Mammeri, H** (2007). Résistance plasmidique aux quinolones. *Antibiotiques*, 9. 247
- **Peyrou, M** (2001). Antibiorésistance des souches bactériennes d'origine équine. Thèse de doctorat : Toulouse. Université de Toulouse, 21-22-69 p.
- **Podglajen, I** (2006) Génétique de la résistance. Dans : **Courvalin, P., Leclerq, R., Bingen, E.** AntibioGramme. Editions ESKA. Paris. 21-31p.

- **Quinn, J. P., Miyashiro, D., Sahm, D., Flamm, W.R., Bush, K.** (1989). Novel Plasmid-Mediated  $\beta$ -Lactamase (TEM-10) Conferring Selective Resistance to Ceftazidime and Aztreonam in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33. (9), 1451
- **Qureshi, Z.A., Paterson, D.L., Pakstis, D.L., Adams-Haduch, J.M., Sandkovsky, G., Sordillo, E., Polsky, B., Peleg, A.Y., Bhussar, M.K. Doi, Y** (2011). Risk factors and outcome of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37. 26
- **Rodriguez-Villalobos, H ; Struelens, M.J** (2006). Résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation*, 15. 206
- **Ruppé, E** (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*, 12, 3-4
- **Saadaoui, M (2008)**. La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 48 p.
- **Souna, D** (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbas. Mémoire de Magister : Biochimie appliquée. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid, 58-60 p.
- **Souna, D** (2015). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. Thèse de doctorat : Microbiologie. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid, 2 /71-75/ 93 p.
- **Versalovic, J., Carroll, K.C., Funke, G., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Warnock, D.W.** Gram stain of *Enterobacter cloacae*. [Photo] In : *Microbe Canvas*. Disponible sur : < <https://microbe-canvas.com/Bacteria.php?p=414> > (Consulté le 06/05/2021).
- **Yala, D., Merad, A., Mohamedi, D., Ouar Korich, M** (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91. (1), 5
- **Zogheib, E., Dupont, H** (2005). Entérobactéries multirésistantes. *Elsevier SAS* [en ligne], (Consulté le 10/05/2021)  
[http://jpmis2.free.fr/Divers/SFAR\\_2008/ca05/html/ca05\\_13/ca05\\_13.htm](http://jpmis2.free.fr/Divers/SFAR_2008/ca05/html/ca05_13/ca05_13.htm)

**Annexe : Les tests biochimiques d'identification d'*Enterobacter cloacae*****1. Recherche de l'oxydase**

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

**• Technique :**

- Placer un morceau de papier imprégné de la NN-diméthyl-paraphénylène diamine sur une lame à l'aide d'une pince flambée.
- Avec une pipette Pasteur prélever une colonie cultivée sur un milieu solide et la déposer doucement sur le papier.

**• Lecture :**

- ✓ Si la colonie prend une teinte rose, violette : Oxydase (+)
- ✓ Si la colonie reste incolore : Oxydase (-)

**2. Recherche de la catalase**

Il permet la détection de l'enzyme « catalase » qui décompose le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) ( $H_2O_2$ ) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :

**• Technique**

Ce test s'effectue sur une lame porte objet propre. La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on plonge ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée.

**• Lecture**

- ✓ Dégagement gazeux : Catalase (+)
- ✓ Absence de dégagement gazeux : Catalase (-)

### 3. Recherche de la nitrate réductase

Ce test permet la détection de l'enzyme la nitrate réductase qui catalyse la réaction de réduction des nitrates en nitrites.

- **Technique**

Ce test s'effectue à partir d'un milieu mannitol mobilité nitraté, ou de bouillon nitraté en utilisant deux types de réactifs (réactifs de Griess) : l'acide sulfanilique (nitrite 1) et l' $\alpha$ -naphtylamine (nitrite 2) en solution dans l'acide éthanoïque.

- **Lecture**

- ✓ Coloration rouge : Nitrate réductase (+)
- ✓ En absence de coloration : soit les nitrates ont été réduits au stade azote, soit la bactérie ne possède pas de nitrate réductase : Nitrate réductase (-)

L'addition de poudre de Zinc (réactif de Zobell, qui va réduire les nitrates en nitrites) permet de trancher.

- ✓ Si une coloration rouge : Nitrate réductase (-)
- ✓ Si aucune modification de coloration n'est visible : les nitrates ont été réduits au stade azote donc Nitrate réductase (+)

### 1. Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, saccharose, la production de gaz et d' $H_2S$ sur le milieu TSI

Ce test permet de mettre en évidence l'aptitude ou l'incapacité des entérobactéries à fermenter le glucose (avec ou sans dégagement de gaz), le lactose, le saccharose et à réduire les sulfates en sulfures en présence de fer, donne un précipité noir de sulfure de fer.

- **Technique**

L'ensemencement est réalisé par piqûre centrale dans le culot puis par stries sur la pente, la Lecture se fait après 24 heures d'incubation à 37°C. L'utilisation de l'un des sucres se traduit par un virage au jaune de l'indicateur (rouge de phénol).

- **Lecture**

\*Culot de la gélose :

- ✓ Jaune : Glucose (+) (fermentation du glucose).
- ✓ Rouge ou inchangé : Glucose (-)
- ✓ Noir : formation de sulfure d'hydrogène H<sub>2</sub>S.
- ✓ Bulles ou fissures : formation de gaz à partir du glucose.

\*Pente de la gélose :

- ✓ Jaune : Lactose et/ ou Saccharose (+) (utilisation du lactose et/ ou du saccharose).
- ✓ Rouge ou inchangé : Lactose et/ ou Saccharose (-)

## 2. Recherche de l'utilisation du citrate sur gélose Simmons citrate

Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Ce milieu contient du citrate de sodium et du sel d'ammonium ainsi que du bleu de bromothymol comme indicateur de pH.

- **Technique**

-Ensemencer par des stries le long de la pente à l'aide de la pipette pasteur.

-Mettre à l'étuve 24h à 37C°

- **Lecture**

- ✓ Croissance sur la pente et virage du milieu du vert au bleu : Citrate (+)
- ✓ L'absence de croissance et du virage de couleur : Citrate (-)

## 3. Test Mannitol mobilité

Le milieu mannitol-mobilité permet l'étude de la dégradation du mannitol, et la mobilité bactérienne.

- **Technique**

L'ensemencement du milieu se fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit sans boucle). Incubation à 37°C durant 18 à 24 heures.

- **Lecture**

- ✓ Virage du milieu rouge au jaune : Mannitol (+)
- ✓ Pas de virage du milieu : Mannitol (-)
- ✓ Diffusion à partir de la ligne d'ensemencement entraînant un trouble du milieu : Mobilité (+)
- ✓ Une culture uniquement au niveau de la piqure centrale : Mobilité (-)

#### **4. Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase et de la TDA**

Le milieu urée-tryptophane, improprement appelé urée-indole permet la mise en évidence simultanée :

- De la production de l'indole (par hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase).
- De la dégradation de la tryptophane (par l'enzyme tryptophane désaminase (test TDA)).
- De l'hydrolyse de l'urée (par une uréase).

- **Technique**

- Mettre 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne dans le milieu urée-indole.
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24h.

Après avoir constaté la couleur du milieu :

- Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs pour la mise en évidence de l'indole.

- **Lecture**

- ✓ Virage du milieu au rouge violacé : Uréase (+)
- ✓ Le milieu a une teinte jaune : Uréase (-)

Après ajout du réactif de Kovacs :

- ✓ Formation d'un anneau rouge à la surface : Indole (+)
- ✓ Absence d'anneau rouge (anneau marron) : Indole (-)

Après ajout du perchlorure de fer (réactif de TDA) :

- ✓ Coloration brun-rouge : Bactérie TDA (+)
- ✓ Coloration jaune-orangée : Bactérie TDA (-)

## 5. L'étude de la voie de fermentation de glucose (Milieu Clark et Lubs)

Ce milieu permet l'étude de la voie de fermentation de glucose chez les BGN, soit par l'utilisation de la voie de fermentation des acides mixtes qui sont mis en évidence par le test de RM (Rouge de méthyle) ce qui conduit à la formation de nombreux acides, soit par l'utilisation de la voie de fermentation butanediolique qui est mis en évidence par le test de VP (Voges-Proskauer), ce qui contribue à la production d'acétoïne.

### • Technique

- A l'aide d'une pipette pasteur ensemercer le milieu Clark et Lubs, En ajoutant quelques gouttes de suspension bactérienne.
- Incuber pendant 24heures à 37°C.
- Après incubation, partager le milieu en deux tubes d'hémolyse pour pratiquer les deux tests.
- Rajouter au premier tube 2 à 3 gouttes de RM puis observer immédiatement.
- Rajouter au second tube quelques gouttes de VP1 et VP2, agiter le tube pour favoriser l'oxygénation, lire au bout de quelques minutes.

### • Résultat

\* Test RM :

- ✓ Milieu rouge : RM (+)
- ✓ Milieu jaune : RM (-)

\* Test VP :

- ✓ Apparition d'une couleur rouge : VP (+)
- ✓ Milieu reste incolore : VP (-)

## 6. Recherche de la $\beta$ -galactosidase : test ONPG

Le test ONPG consiste à rechercher la présence de  $\beta$ -galactosidase en utilisant l'ortho-nitro-phényle-galactoside (ONPG) comme substrat, ce dernier présente l'avantage d'être hydrolysé en un produit coloré (l'ortho- nitrophénol ONP).

### • Technique

- Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée.
- Ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG.
- Incuber 30 min à 37°C.

### • Lecture

- ✓ Le milieu devient jaune : ONPG (+)
- ✓ Le milieu reste incolore : ONPG (-)

## Résultats de l'identification biochimique d'*Enterobacter cloacae*

<b>Tests</b>	<b>Oxydase</b>	<b>Catalase</b>	<b>NR</b>	<b>Gaz / GLC</b>	<b>Lactose</b>	<b>Saccharose</b>	<b>H<sub>2</sub>S</b>	<b>Citrate</b>
<b>Résultats</b>	-	+	+	+	+	+	-	+
<b>Tests</b>	<b>Mobilité</b>	<b>Mannitol</b>	<b>Indole</b>	<b>Urée</b>	<b>TDA</b>	<b>RM</b>	<b>VP</b>	<b>ONPG</b>
<b>Résultats</b>	+	+	-	-	-	-	+	+

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

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

### Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Enterobacter cloacae* isolées au niveau de l'établissement public hospitalier El bir Constantine

#### Résumé

*Enterobacter cloacae* est un pathogène opportuniste majeur impliqué dans les infections nosocomiales et les épidémies, il constitue actuellement une menace sérieuse de santé publique à l'échelle mondiale.

Dans le but de dresser le profil bactériologique et le profil de résistance des douze souches d'*E. cloacae*, nous avons mené une étude rétrospective des trois années précédentes (2018, 2019 et du premier semestre de l'année 2020) à partir des données des registres de bactériologie et des fiches d'antibiogrammes archivées au niveau du laboratoire de microbiologie de l'EPH El bir Constantine.

Les douze souches ont été identifiées par galerie biochimique classique puis réparties selon des critères bien définis. La sensibilité des souches a été étudiée par la méthode des disques interprétés en trois catégories : Sensible, Résistant, et Intermédiaire, en se référant aux normes du CLSI.

D'après les résultats de l'évaluation de l'antibiorésistance obtenus, la majorité des souches isolées sont résistantes à un ou plusieurs antibiotiques testés à l'exception de la Kanamycine, l'Imipénème et la Colistine qui restent actifs à 100% sur toutes les souches.

Nos résultats montrent que le phénomène de la résistance aux antibiotiques augmente de plus en plus et de façon inquiétante dans les milieux hospitalier. Leur émergence représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place de systèmes de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital et l'application stricte des mesures d'hygiène.

**Mot clés :** *Enterobacter cloacae*, antibiotiques, résistance, hôpital El bir.

#### Membre du jury :

**Présidente du jury :** Mme SEKHRI-ARAFI. N (M.C.A- UFM Constantine 1).

**Rapporteur :** Mme BOUZERAIB. L (M.A.A-UFM. Constantine 1).

**Examinatrice :** Mme MEZIANI. M (M.C.B- UFM Constantine 1).

**Présentée par :** ZALIF Bani Sabrine  
ZERKINE Nihel Lamis

**Année universitaire :** 2020-2021