

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

Département de Microbiologie

قسم الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Micro-organismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Isolement et Identification d'*Enterobacter sp.* et l'étude de la résistance aux antibiotiques

Présenté par : ABDI Ghada

Le 27/06/2022

BENABDERRAHMANE Rayane

BENAMARA Nour Elhouda

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme BOUZERAIB. L (M.A.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme BOULTIFAT .L (M.C.B- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mme ZERMANE .F (M.A.A -Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire

2021 – 2022



Remerciements

*Le plus grand merci revient d'abord à « **ALLAH** » qui lui seul nous a guidé dans le bon chemin durant notre vie et qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour élaborer ce travail de recherche.*

*Nous remercions notre directrice de travail Mme « **BOUZERAIB L.** » qui a accepté avec toute modestie de nous encadrer. Nous la remercions pour son aide, sa patience, ses compétences scientifiques, sa confiance qu'elle nous accordée et surtout pour ses conseils précieux qui ont conduit à l'achèvement de ce travail.*

Nous tenons particulièrement à présenter nos remerciements et nos gratitudes aux examinateurs qui s'apprêtent à évaluer notre travail.

A toute l'équipe pédagogique de la faculté des sciences de la nature et de la vie

A toutes les personnes qui ont contribué de pré et de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Nous exprimons nos sincères remerciements -MERCI-



Dédicace

Mes remerciements les plus chaleureux

Vont à mes parents « Houcine et Farida »

A mon frère « Mouhamed Islem » et mes sœurs « Oumaima et Nada »

A ma petit nièce « Basmala soujoude »

*A ma plus proche amie « Youssra » à qui je te souhaite une vie pleine
de bonheur avec son mari*

*A ma belle-famille, mon beau père « Amar » et ma belle-mère
« Hayate »*

A Mes belles sœurs « Ahlem et Ghada »

*Et particulièrement à la personne avec laquelle je construis mon foyer
et je partage ma vie et mes rêves, à mon mari « Akram »*

*Enfin, je tiens à remercier « Rayane et Nour elhouda » mes collègues de
travail pour les émotions et les sentiments partagés qui ont donné un
charme à notre travail.*



Ghada



Dédicace

En ce moment particulier de ma vie, je dédie ce travail

A mon homme papa et mes yeux maman

Pour leurs amours, leurs soutiens et leurs encouragements et pour tous les sacrifices, pour lesquels que vous avez consentis dans ma vie et toute au long de mon parcours, si je suis arrivée là, c'est bien grâce à vous. Que dieu vous donne longue vie et vous protège pour moi.

A mon cher frère Mouhamed lamîne et Ma chère sœur Hibat Allah

Qui sont ma joie dans la vie, que Dieu les garde pour moi.

A mes deux grands-mères, avec tous mes vœux de bonheur et de santé

A toute ma famille

A mon cher Oussama

Tu représentes pour moi le symbole de courage, de confiance, que Dieu te garde pour moi. Je le remercie pour ton soutien.

A ma meilleure copine khaoula, merci pour tout ma belle

A toutes mes amies et mes deux collègues Ghada et Rayane

Je les remercie de m'avoir accompagnée tout au long de mon parcours et surtout pour leur patience et aide lors de la réalisation de ce travail

Nour elhouda





Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents

*A ma mère, à celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne
éducation et de ses dévouements*

*A mon cher père, à celui qui s'est changé la nuit en jour pour
m'assurer les bonnes conditions*

A mes chères sœurs Soundous, Douaa, Basmala et Anfel

*A mes grands-parents, mes chères tantes et à ceux qui ont partagé
avec moi tous les moments d'émotions lors de la réalisation de ce
travail*

A ma meilleure et ma proche amie Safaa la plus belle fille au monde

*A toute ma famille, mes amis Ghada et Houda et à tous ceux que
j'aime*



Rayane

Abstract

The genus *Enterobacter* is considered as a significant pathogen included in several opportunistic and nosocomial infections and it mainly constitutes a serious threat in the medical field.

The present work is part of a retrospective study over a period of seven years and the first half of the year 2022 realized at the Bacteriology Laboratory of the Pediatric hospital El-Mansourah, Constantine.

In addition, a practical study was carried out based on the research of *Enterobacter sp.* in the water of Oued Salah Darradji El-Khroub performed by isolation on specific media followed by biochemical identification completed by the API 20E gallery.

The resistance of strains to antibiotics was studied by the discs diffused on an agar medium method and interpreted according to the CLSI standards.

The results of antibiotic resistance revealed that the majority of *Enterobacter sp.* strains were particularly resistant to β -lactams and to several antibiotics tested except for Kanamycin, Imipenem and Colistin which remained 100% active on all strains. Moreover, the results of the practical part confirmed that the phenomenon of antibiotic resistance is increased in hospitals and different environments.

Keywords: *Enterobacter sp.* , isolation, identification, resistance, antibiotics.

ملخص

جنس *Enterobacter* يعتبر من العوامل الممرضة الرئيسية المدرجة في الأسباب المتزايدة للعدوى الانتهازية و عدوى المستشفيات ، وبشكل أساسا تهديدا خطيرا في عالم الطب . عملنا هو جزء من دراسة رجعية لمدة سبع سنوات والنصف الأول من عام 2022 على مستوى مختبر علم الجراثيم بمستشفى طب الاطفال المنصورة - قسنطينة.

كما قمنا ايضا بدراسة عملية تعتمد على البحث عن بكتيريا *Enterobacter sp.* في مياه واد صالح الدراجي الخروب ، بهدف إجراء عزل على وسط معين يتبعه تحديد كيميائي حيوي يكمله معرض API 20E.

تمت دراسة مقاومة السلالات للمضادات الحيوية بطريقة الأقراص المنتشرة على وسط أجار وتم تفسيرها وفقًا لمعايير CLSI

وفقًا لنتائج تقييم مقاومة المضادات الحيوية التي تم الحصول عليها، فإن غالبية سلالات *Enterobacter sp.* مقاومة بشكل خاص لـ β -lactamine والعديد من المضادات الحيوية التي تم اختبارها باستثناء Colistine و Imipenème و Kanamycine التي تظل نشطة بنسبة 100 ٪ على جميع السلالات وتؤكد نتائج الجزء العملي أن ظاهرة المقاومة للمضادات الحيوية تتزايد أكثر فأكثر بطرق مقلقة في المستشفيات وكذلك في البيئة .

الكلمات المفتاحية : *Enterobacter sp.* , عزل , تعريف , مضادات حيوية .

Résumé

Enterobacter est un genre considéré comme un pathogène majeur inclut dans les causes croissantes d'infections opportunistes et nosocomiales, il constitue principalement une menace sérieuse dans le monde médical.

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une étude rétrospective sur sept années et sur le premier semestre de l'année 2022 au niveau de laboratoire de Bactériologie de l'hôpital pédiatrique d'El-Mansourah, Constantine.

Aussi nous avons effectué une étude pratique basée sur la recherche de la bactérie *Enterobacter sp.* dans l'eau d'Oued Salah Darradji El-Khroub, dans le but de réaliser un isolement sur milieux spécifiques suivi d'une identification biochimique complétée par la galerie API 20E.

La résistance des souches aux antibiotiques a été étudiée par la méthode des disques diffusés sur milieu gélosé et interprétées selon les normes du CLSI.

D'après les résultats de l'évaluation de l'antibiorésistance obtenus, la majorité des souches d'*Enterobacter sp.* sont résistantes particulièrement aux β -lactamines ainsi à plusieurs antibiotiques testés à l'exception de la Kanamycine, l'Imipenème et la Colistine qui restent actifs à 100% sur toutes les souches et les résultats de la partie pratique confirment que ce phénomène de résistance aux antibiotiques augmente de plus en plus et de façon inquiétante dans les milieux hospitaliers et aussi dans l'environnement.

Mots clés : *Enterobacter sp.* , Isolement, Identification, résistance, antibiotiques.

La liste des tableaux

Tableau 1 : Les caractères d'identification des genres d'entérobactéries les plus fréquents....	5
Tableau 2 : Caractères biochimiques d'identification des espèces d' <i>Enterobacter</i>	12
Tableau 3 : Principales familles d'antibiotiques	22
Tableau 4 : Classification de la famille des Quinolones	34
Tableau 5 : Résultats de la galerie API 20 E de la souche E ₂ /R ₂ J.....	52
Tableau 6 : Résultat de la galerie API 20 E de la souche E ₂ /A ₁	53
Tableau 7 : Les résultats de l'antibiogramme des souches d' <i>Enterobacter sp</i>	54

Liste des figures

Figure 1 : La localisation préférentielle des entérobactéries au niveau de système digestif...	4
Figure 2 : Structure et aspects microscopique d' <i>Enterobacter</i>	14
Figure 3 : Ordre chronologique des mises sur le marché de classe d'antibiotiques et l'apparition de premières résistances microbiennes.....	20
Figure 4 : Répartition schématique illustre les différents modes d'action des antibiotiques.	23
Figure 5 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques.....	27
Figure 6 : Structure de quelques β -lactamines.....	28
Figure 7 : Hydrolyse de cycle β - lactamine par les enzymes β -lactamases.....	30
Figure 8 : Mécanisme de résistance des entérobactéries au β - lactamines.....	31
Figure 9 : Structure de quelques aminosides.....	32
Figure 10 : Structure de quelques quinolones	34
Figure 11 : Le mécanisme de résistance aux quinolones.....	36
Figure 12 : La localisation d'Oued Salah Darradji (Google Maps).....	39
Figure 13 : La galerie classique (mini galerie)	40
Figure 14 : La galerie API 20E	42
Figure 15 : Répartition des patients infectés par <i>Enterobacter</i> selon les services.....	44
Figure 16 : Répartition des données consultées en fonction du sexe.....	45
Figure 17 : Répartition des données consultées selon la nature du prélèvement.....	45
Figure 18 : Sensibilité et résistance des souches d' <i>Enterobacter sp.</i> aux antibiotiques.	46
Figure 19 : Aspect, forme et taille des colonies sur la gélose BCP.....	47
Figure 20 : Aspect des colonies après purification sur milieu BCP.....	48
Figure 21 : Aspect des cocobacilles à Gram négatif sous microscope.....	48

Figure 22 : Disque d'oxydase représente un résultat positif.....	49
Figure 23 : Résultat du test catalase positif.....	49
Figure 24 : Aspect des colonies sur milieu Mannitol mobilité.....	50
Figure 25 : Aspect des colonies sur milieu citrate de Simmons.....	51
Figure 26 : Aspect des colonies sur milieu KIA	51
Figure 27 : Galerie API 20E de la souche <i>Enterobacter cloacae</i>	52
Figure 28 : Galerie API 20E de la souche <i>Enterobacter sakazakii</i>	53

Liste des abréviations

A.aerogenes : *Aerobacter aerogenes*

AAC : Aminoside Acétyl transférase

AAD : Aminosides O-adenyly

ADH : Arginine Dihydrolase

AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique

AMX : Amoxicilline

AMY : Amygdaline

AN : Amikacine

ANT : Aminoside nucléotidyltransférases

APH : Aminoside Phospho-transférase

API : Analytical profil index

ARA : Arabinose

ATP : Adénosine tri-phosphate

B.Lactis : *Bacillus lactis aerogenes*

BCP : Gélose lactose au pourpre de Bromocrésol

BHRe : Bactérie hautement résistante

BMR : Bactérie multi-résistante

C : Chloramphénicol

CAZ : Ceftazidime

CHIR : Service chirurgicaux

CIT : Citrate de Simmons

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CS : Colistine

CTX : Céfotaxime

CTX : Service contagieux

E. Coli : *Escherichia coli*

E.cloaceae : *Enterobacter cloaceae*

ECBU : Examen cytobactériologique des Urines

ECC : Complexe d'*Enterobacter cloaceae*

ESKAPE : *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* et *Enterococcus*

FOX : Céfoxitine

GEL : Gélatinase

GLU : Glucose

GM: Gentamicine

H₂S: Sulfure d'hydrogène

Hep-2: Human épithélial cell line type 2

HPI : Hélo de haute pathogénicité

IMViC : I : pour le test d'indole, M : pour le test Rouge de méthyle, V : pour le test de Voges-Proskauer, i : in, C : pour le test de citrate

IND: Indole

INO: Inositol

IPM: Imipenème

ISP: Isepamicine

KAN: Kanamycine

KIA: Kilgler- Hajna

LPS : Lipopolysaccharides

LCR : liquide céphalo-rachidien

LDC : Lysine Décarboxylase

MAN: Mannose

MEL: Mélibiose

MH: Gélose Moller-Hinton

NO : Norfloxacin

NR : nitrate réductase

NRS : Service nourrisson

ODC : Ornithine décarboxylase

ONPG : O-nitrophényl –beta-D-galactopyranoside

PEF : Pefloxacin

PLP : Protéines liant la pénicilline

Réa : Service de réanimation

RHA : Rhamnose

RM : Rouge de Méthyle

SAC : Saccharose

SOR : Sorbitol

SSPII : Système de Sécrétion de Type II

TA : pour les patients hors hôpital

TCC : Ticarcilline+ Acide Clavulanique

TDA : Tryptophanase désaminase

TIC : Ticarcilline

TSI : Triple Sugar Iron Agar

URE : Uréase

VP : Voges-Proskauer

Table des matières

Remerciements.....	I
Dedicace.....	IV
Abstract.....	V
ملخص.....	VI
Résumé.....	VII
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des figures.....	IX
Liste des abreviations.....	XI
Table des matieres.....	XIV
Introduction.....	1

CHAPITRE I : *ENTEROBACTER SP.*

1. Généralités sur les entérobactéries.....	3
1.1. Définition des entérobactéries.....	3
1.2. La relation des entérobactéries avec les autres germes.....	4
1.3. Les principaux genres d'entérobactéries.....	5
2. Etude du genre <i>Enterobacter</i>	6
2.2. Définition.....	6
2.3. Habitat.....	7
2.4. Caractéristiques générales.....	7
2.4.1. Caractéristiques morphologiques.....	7
2.4.2. Caractères cultureux.....	7
2.4.3. Caractéristiques biochimiques.....	8
✚ Test à l'urée.....	8
✚ Réaction d'oxydase.....	8
✚ Recherche de catalase.....	8
✚ Production de l'indole et la recherche de la TDA.....	9
✚ Réduction de nitrate en nitrite (NR).....	9
✚ Fermentation de lactose.....	9
✚ Fermentation de glucose.....	10

✚ Production de sulfure d'hydrogène	10
✚ Test de mobilité.....	10
✚ Test RM-VP	11
✚ Utilisation du Citrate de Simmons.....	11
✚ Galerie miniaturisée	12
2.4.4. Caractéristiques serologiques	13
3. Position taxonomique.....	15
4. Voie de transmissions et source de contamination.....	15
4.1. Voies de transmission.....	15
4.2. Sources de contamination	15
5. Pouvoir pathogène	16
6. Epidémiologie	16
7. Traitement	17

CHAPITRE II : LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

1. Historique	19
2. Définition des antibiotiques.....	20
3. Classification des antibiotiques.....	21
4. Mécanisme d'action	23
5. Résistance aux antibiotiques	23
5.1. Définition de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	24
5.2. Type de résistance bactérienne.....	24
5.2.1. Résistance naturelle	24
5.2.2. Résistance acquise	25
✚ Résistance par mutation chromosomique	25
✚ Résistance par acquisition des gènes étrangers (Extra- chromosomique)	25
• Conjugaison	26
• Transformation.....	26
• Transduction.....	26
6. La résistance d'<i>Enterobacter</i> aux antibiotiques.....	27
6.1. β – lactamines.....	27
6.1.1. Définition.....	27
6.1.2. Mode d'action	28

6.1.3.	Résistance aux β - lactamines.....	29
•	Inactivation enzymatique par les β -lactamses	29
•	Diminution de la perméabilité ou l'imperméabilité	30
•	Système d'efflux.....	30
•	Modification des Protéines de liaison à la Pénicilline	31
6.2.	Aminosides	32
6.2.1.	Définition.....	32
6.2.2.	Classification des aminosides	32
6.2.3.	Mécanisme d'action des aminosides	33
6.2.4.	Résistance aux aminosides.....	33
6.3.	Quinolones.....	33
6.3.1.	Définition.....	33
6.3.2.	Classification des quinolones.....	34
6.3.3.	Mécanisme d'action des quinolones	35
6.3.4.	Résistance aux quinolones	36

MATERIEL ET METHODES

1.	Materiel.....	37
1.1.	Cadre d'étude	37
1.2.	Matériel de prélèvement	37
1.3.	Matériel de laboratoire	37
1.4.	Milieux de culture.....	38
2.	Méthode.....	38
2.1.	Recueil des données de l'étude rétrospective	38
2.2.	Prélèvement.....	38
2.2.1.	Lieu et date de prélèvement	38
2.2.2.	Technique de prélèvement	39
2.2.3.	Transport des échantillons.....	39
3.	Isolement et purification des germes	39
3.1.	Observation macroscopique	39
3.2.	Examen microscopique	40
4.	Identification biochimique	40
•	Test d'oxydase.....	41
•	Test de catalase	41

• Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H ₂ S sur le milieu KIA	41
• Etude de la mobilité.....	41
• Utilisation de citrate de Simmons	41
• Etude de la voie de fermentation du glucose (tests RM et VP)	42
• Galerie miniaturisée API 20 E.....	42
5. Antibiogramme.....	43

RESULTATS ET DISCUSSION

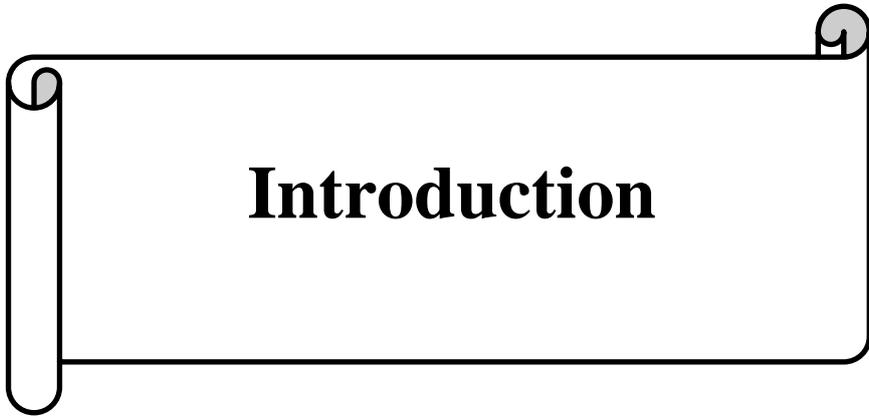
Résultats	44
1. Résultats de l'étude statistique.....	44
1.1. Répartition des données selon les services	44
1.2. Répartition des données en fonction du sexe	44
1.3. Répartition des données en fonction de la nature du prélèvement.....	45
1.4. Profil de résistance d' <i>Enterobacter</i> aux antibiotiques.....	46
2. Résultats de la partie pratique	47
2.1. Aspect culturels.....	47
2.1.1. Examen macroscopique.....	47
• Avant purification	47
• Après purification.....	47
2.1.3. Examen microscopique	48
2.1.4. La galerie classique.....	48
• Test d'oxydase.....	48
• Test de catalase	49
• Mannitol mobilité	49
• Citrate de Simmons	50
• Le milieu KIA	51
• Milieu Clark et Lubs	52
2.1.5. Galerie API 20E	52
Discussion.....	55
1. Discussion des résultats statistiques	55
2. Discussion des résultats de la partie pratique	56

2.1. Isolement et identification.....	56
2.2. Antibiogramme.....	57

Conclusion.....	58
------------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES



Introduction

Introduction

Dans le monde bactérien, les bactéries sont classées en deux catégories, les premières sont inoffensives qui ont des effets bénéfiques pour l'être vivant, et les autres pathogènes responsables des sévères infections comme le genre *Enterobacter*.

Historiquement ce genre a été classé dans la catégorie des agents pathogènes légers causant une faible menace pour l'être humain, maintenant *Enterobacter sp.* ont retenu l'attention en tant qu'agents opportunistes provoquant des infections chez les patients immunodéprimés dans les établissements hospitaliers et cliniques (**Anju, Siddardha et Dyavaiah, 2020**).

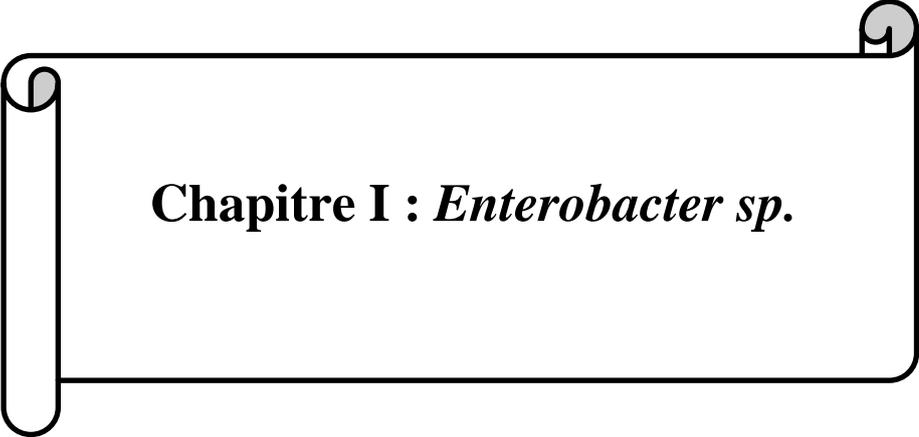
Enterobacter est un genre qui fait partie de la famille des Enterobacteriaceae (**Anju, Siddardha et Dyavaiah, 2020**). Ce genre est composé de plusieurs espèces dont les plus fréquents sont trouvées dans les dispositifs médicaux et milieux de soins, environnementaux (sol, eau) et les prélèvements d'origine humains (urines, sang) aussi chez les patients ayant des pathologies sévères ou certains facteurs prédisposant aux infections comme les voies veineuses centrales et les traitement d'antibiotiques au long cours (**Joly et Reynaud, 2002 cité par Mokrani, 2010**). *Enterobacter sp.* peut également associé à une variété des infections nosocomiales et d'épidémies (**Anju, Siddardha et Dyavaiah, 2020**).

Durant ces dernières années, le fait le plus mauvais est l'apparition et la propagation des bactéries multirésistantes aux antibiotiques qui signifie un phénomène délicat, évolutif et inquiétant (**Grimont et Grimont, 2006**). Parmi les pathogènes cliniques les plus importants, les espèces de ce genre sont naturellement résistant aux antibiotiques les plus anciens et ont la capacité de développer une résistance même aux nouveaux antibiotiques et présentent des complications primordiales à la santé publique (**Anju et al., 2020**).

Les objectifs de cette étude étaient d'une part d'étudier les méthodes et les techniques d'isolement et d'identification du genre *Enterobacter* et d'autre part de caractériser la résistance aux antibiotiques chez ce dernier par la technique d'antibiogramme par diffusion décrite dans la technique de CLSI.

A la lumière d'une documentation bibliographique notre manuscrit est divisé en trois parties : partie théorique, partie statistique et une partie pratique.

- La première partie qui comporte le volet théorique de la recherche est constituée de deux grands chapitres.
- ✓ Le premier chapitre porte sur des généralités qui traitent des définitions, des caractéristiques d'*Enterobacter sp.* leurs infections et le traitement approprié.
- ✓ Le deuxième chapitre est basé sur l'étude de l'antibiorésistance de ce genre selon différentes sources.
- Puis dans la partie statistique nous avons donné quelques chiffres qui montrent le taux des infections causée par cette bactérie dans différents prélèvements biologique d'origine humaine complété par une étude rétrospective de leurs profils de résistance aux antibiotiques.
- Enfin une partie pratique consacrée à la méthodologie de travail réalisé dans ce mémoire dans laquelle nous avons travaillé sur l'isolement et l'identification d'*Enterobacter sp.* à partir des prélèvements environnementaux (les eaux), suivi par les résultats obtenus et leurs discussion et enfin l'établissement d'une conclusion.



Chapitre I : *Enterobacter sp.*

1. Généralités sur les entérobactéries

La famille des Enterobacteriaceae est créée par Otto Rahn en 1937 qui a été travaillé sur le regroupement des micro-organismes partageant des caractères biochimiques et morphologiques similaires dans une même classe. Après deux années de cette description qui concernait 112 espèces, ce nombre fut ramené à 67.

En 1972, Edward et Ewing intégraient 11 genres et 26 espèces dans cette famille.

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

En 1997, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés et en 2006, 46 genres publiés appartenant aux entérobactéries (**Pimido, 2009**).

Le nom d'entérobactéries ou les bactéries entériques a une relation avec les cellules intestinales ou les entérocytes (du gras enterikos : préfixe référant à l'intestin) (**Pilly, 2013 cité par Berrihil et Bouzeraa, 2018**) ces bactéries sont en général des hôtes normaux (commensaux) ou pathologiques du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud (**Carip, 2008**).

Les entérobactéries sont très hétérogènes regroupant un grand nombre de genres et d'espèces ayant en commun des caractères précis ainsi que leur habitat et généralement toutes les bactéries de cette famille répondent à la définition suivante (**Carip, 2008**).

1.1. Définition des entérobactéries

Ces micro-organismes forment une vaste famille de bactéries à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatives, de forme bacille ou cocci, non sporulé, et tous les genres de cette famille ont une oxydase négative et capable de fermenter le glucose avec d'autres différents critères, La fermentation du lactose est l'un des caractères le plus nécessaire qui permet de classer ces bactéries en deux groupes essentiels (**Guiraud, 2012**) :

- **Les coliformes** ou les entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz comme : *Escherichia coli*, *Klebsiella* et *Enterobacter*.
- **les entérobactéries ne fermentant pas le lactose** comme *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus* et *Yersinia*.

Les entérobactéries sont importantes autant du point de vue quantitatif que qualitatif. Ce sont des micro-organismes ubiquitaires (on peut les retrouver partout) (aquaportail).

Au niveau de l'intestin terminal, ces bactéries ont un pourcentage supérieur à 10% de la flore totale et représente la majorité de la flore aérobie- anaérobie (Figure 1) (Guiraud, 2012)

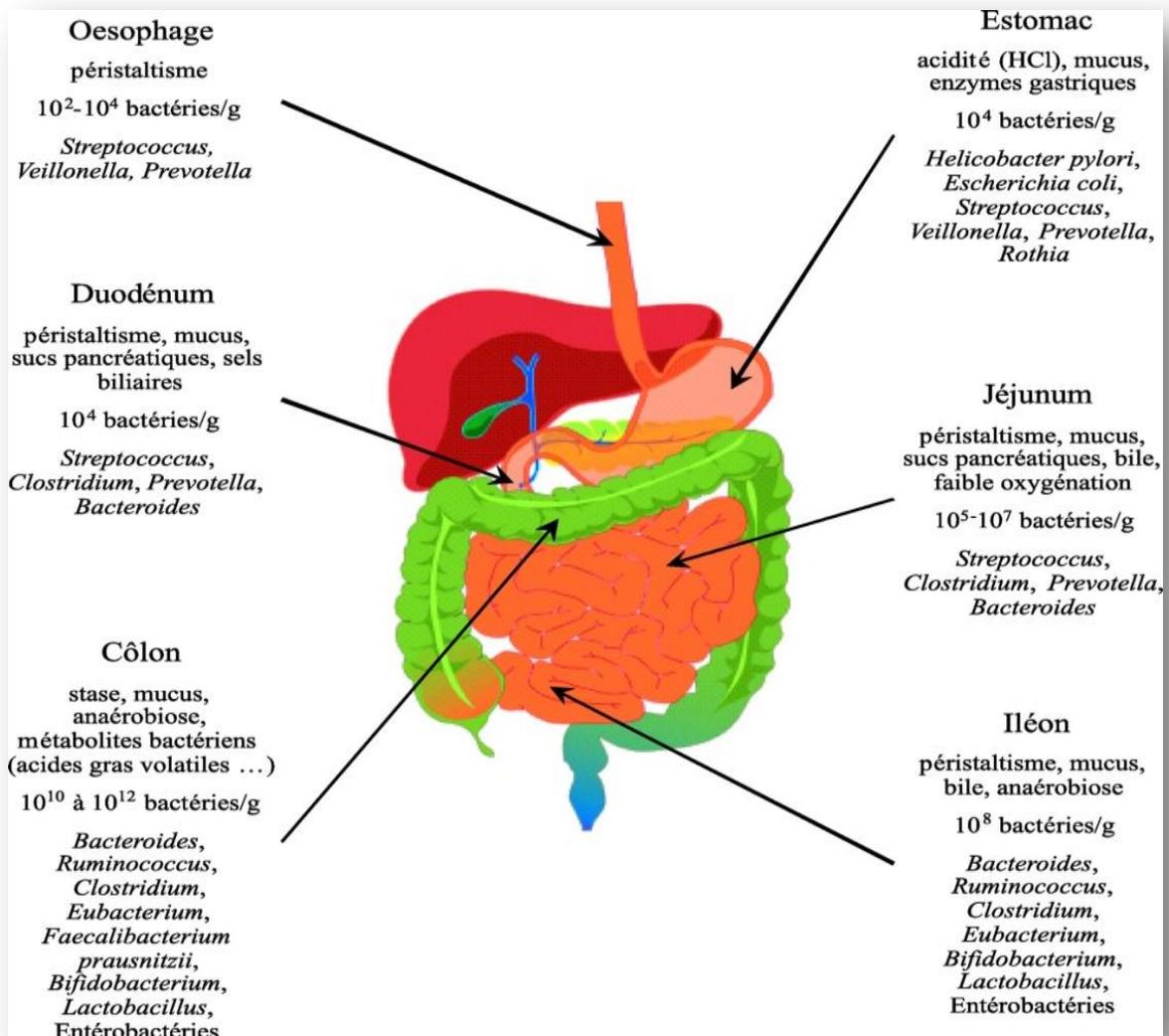


Figure 1 : La localisation préférentielle des entérobactéries au niveau du système digestif (Coudeyras et Forestier, 2010)

1.2. La relation des entérobactéries avec les autres germes

Selon les différentes relations des entérobactéries avec les micro-organismes, ces bactéries peuvent être (Carip, 2012)

- **Parasites** : comme le genre *Salmonella* et *Shigella* ...
- **Commensales** : comme *Escherichia coli*, *Klebsiella*...

➤ **Saprophytes** : tels que *Serratia sp.* et *Enterobacter ...*

1.3. Les principaux genres d'entérobactéries

La famille des Enterobacteriaceae comprend plusieurs genres (plus de 30 genres) et espèces (environ 130 espèces) dont les plus fréquents sont isolés chez l'homme tels que *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Yersinia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Morganella*, *Tatumella* et d'autres ... (Bousseboua, 2005)

✚ La différence entre ces genres vient de critères différents (tableau 1)

Tableau 1 : Les caractères d'identification des genres d'entérobactéries les plus fréquents (Decoster et Lahieu, 2006 cité par Gadou, 2019)

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Morganella</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+	-
INDOLE	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-	+
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
H₂S	-	+ /-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	-

VP : Voges – Proskauer **ONPG** : l'orthonitrophényl-β-galactosidase **H₂S** : thiosulfate

TDA : Tryptophane désaminase (+) : résultat positif (-) : résultat négatif

(+/-) = variable

2. Etude du genre *Enterobacter*

2.1. Historique

Le genre *Enterobacter* a été proposé pour la première fois par Hormaeche et Edwards (1960). Cependant, l'histoire de certaines espèces maintenant placées dans le genre *Enterobacter* retracée, bien qu'avec une certaine confusion, jusqu'à la fin du 19^{ème} siècle (**Grimont et Grimont, 2006**).

Bacillus lactis aerogenes a été isolé par Escherich (1885). En 1955, la différenciation de cet organisme du bacille de Friendlander (maintenant appelé *Klebsiella pneumoniae*), n'était pas claire et la plus part des auteurs considéraient « *B.lactis aerogenes* » ou « *Aerobacter aerogenes* » comme étant soit non mobiles soit contenant à la fois des souches mobiles et non mobiles. Cela a conduit Edwards et Fife à déclarer que « *A.aerogenes* » étaient en fait des *Klebsiella* (**Grimont et Grimont, 2006**).

Afin d'éviter toute confusion résultant de la reclassification dans le genre *Kelbsiella* de nombreuses souches non mobiles précédemment étiquetées « *A.aerogenes* », Hormeache et Edwards ont proposé un nouveau genre *Enterobacter* comme substitus à « *Aerobacter* ». Ce genre était alors composé de *E.cloacae* (l'espèce type) et *E.aerogenes*.

En 1963 la commission judiciaire du comité internationale de nomenclature des bactéries a placé le nom *Enterobacter* sur la liste des noms conservés (Commission judiciaire, 1963) (**Grimont et Grimont, 2006**).

2.2. Définition

Enterobacter est un genre de bactéries à Gram négatif, aéro-anaérobie facultative, appartenant à la famille d'Enterobacteriaceae (**Nazir et al ., 2018**). Il fait partie du groupe ESKAPE (**Davin-Regli, Lavigne et Pagès, 2019**).

Ce genre se trouve partout est considéré comme un hôte chez l'homme et les animaux chez lequel elle réside principalement au niveau de l'intestin. Il comprend actuellement 22 espèces : *E. sakazakii*, *E. turicensis*, *E. pulveris*, *E. oryzae*, *E. helveticus*, *E. radicincitan*, *E. amnigenus*, *E. gergovia*, *E. cowanii*, *E. ludwigii*, *E. pyrinus*. Parmi ces espèces sept regroupées au sein du groupe complexe *E. cloacae* : *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigi*, *E. mori* et *E. nimipressuralis*. Cette nomenclature est basée sur le partage des caractéristiques phénotypiques et sur tout génotypiques déterminée par hybridation ADN-ADN » (**Davin-Regli, Lavigne et Pagès, 2019**).

Certaines souches pathogènes opportunistes du genre *Enterobacter* peuvent être responsables des infections divers comme les infections et nosocomiales à l'hôpital (Delarras, 2007).

2.3. Habitat

L'habitat principal d'*Enterobacter sp.* est le tube digestif de l'homme et des animaux c'est-à-dire des germes commensales qui font partie du microbiote intestinale (Delarras, 2007).

Ce sont des microorganismes ubiquitaires (ils ont un habitat très large et différents écosystèmes telluriques et aquatiques) on les retrouve largement dans l'environnement et les milieux humides tels que : le sol, l'eau (l'eau douce, l'eau de mer et les eaux d'égouts) et grâce à leurs caractéristiques biochimiques et métaboliques certaines souches participent au cycle de dégradation de la matière organique chez les végétaux où ils dégradent la matière organique et favorisent la croissance des plantes par l'augmentation de la fixation et l'accumulation de l'azote atmosphérique (c'est à dire des bactéries saprophytes) (Cabonelle et al., 1987 cité par Berrihil et Bouzeraa, 2018). Ils se trouvent aussi au niveau des aliments et les produits industriels est joué le rôle dans la fermentation ou serve comme des indicateurs de contamination fécale, dans les selles sans oublier les zones humides de la peau, les fosses nasales et les vois génitales (Carip, 2008).

2.4. Caractéristiques générales

2.4.1. Caractéristiques morphologiques

Ce sont des bacilles droits (bâtonnets) à Gram négatif de 0,6 à 1 µm de diamètre sur 1,2 à 3 de longueur, asporulée et mobile grâce une ciliature péritriche (à l'exception d'*E. asburiae* qui n'est pas mobiles) (Douhan, 2021) non capsulé sauf le genre *Enterobacter aerogenes*. Pour leur mode de regroupement ils sont se trouvent de manière isolée soit groupée ou en courte chainettes.

2.4.2. Caractères cultureux

Le genre *Enterobacter* se développe facilement sur les milieux usuels non enrichis comme la gélose ordinaire coulée en boîte de pétri en 24h à pH neutre et à une température optimale de croissance de 37°C c'est-à-dire des germes mésophiles, aéro-anaérobies facultatifs, ne sont pas pigmentées et ont un aspect classique des colonies d'entérobactéries (des colonies lisses, brillantes, bombées et humides de structures homogènes).

Pour l'espèce *E. cloacae* les colonies sont d'une forme ronde avec un diamètre de 2 à 3 mm et légèrement plates avec des bords irréguliers (**Grimont et Grimont, 2006**).

2.4.3. Caractéristiques biochimiques

L'identification des genres et les espèces des entérobactéries repose aussi sur l'étude des caractères biochimiques du métabolisme glucidique et protéique. Cette étape d'identification se fait à l'aide des galeries biochimiques qui peuvent être soit en tube (macro galerie) soit en système miniaturisé (micro galerie) (**Biotechnologie au lycée**). Les principales caractéristiques d'*Enterobacter sp.* étudiée sont :

Test à l'urée

Les entérobactéries dégradent l'urée qui est un composé organique et une source d'azote essentiel aux bactéries qui ont une enzyme Uréase. En présence de cette enzyme, les bactéries ureolytiques peuvent scinder l'urée en CO₂ et en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu et provoque le changement de l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge en milieu basique.

E. gergoviae est l'une des espèces d'entérobactéries qui peut être Uréase positive (**Delarras, 2007**).

Réaction d'oxydase

La recherche d'oxydase (appelé aussi le phénylène diamine oxydase) est une réaction très importante qui oriente l'identification des bactéries à Gram négatif avec un intérêt taxonomique. Les bactéries possédant l'enzyme cytochrome oxydase (Oxydase positive) qui est une enzyme respiratoire comme le cas des souches d'*Enterobacter sp.* cette dernière peuvent oxyder la forme réduite incolore de N-méthyles du paraphénylènediamine en semi quinone (rose violacé) (**Douhan, 2021**).

Recherche de catalase

Certaines bactéries à Gram négatif aérobie strictes et aérobie anaérobies facultatives notamment le genre *Enterobacter* ont la capacité de dégrader le peroxyde d'hydrogène ou bien l'eau oxygénée (H₂O₂) en eau (H₂O) et dioxygène(O₂) grâce à une enzyme catalase selon la réaction suivante : (**Delarras, 2007**).



✚ Production de l'indole et la recherche de la TDA

• Indole

La mise en évidence d'indole nécessite la présence d'enzyme Tryptophanase désaminase qui hydrolyse le tryptophane en indole, acide pyruvique et en ammoniac.

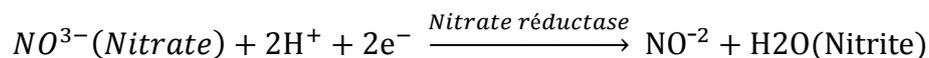
L'indole formé réagit avec le réactif de Kovacs et induit à la formation d'un anneau rouge à la surface du milieu (**Douhane, 2021**).

• TDA

La présence de TDA est détecté par l'ajout d'une goutte de perchlorure de fer (FeCl_3) avec une coloration brune dans le cas où la bactérie testée TDA positif (**Douhane, 2021**).

✚ Réduction de nitrate en nitrite (NR)

Les souches d'*Enterobacter sp.* dans les conditions d'anaérobiose peuvent obtenir leur énergie par la respiration anaérobie. Cette respiration a une relation avec l'activité d'une enzyme localisée dans la membrane plasmique bactérienne et qui réduit les nitrates en nitrites et parfois jusqu'à la dénitrification. Selon la réaction suivante : (**Boussena, 2019**)



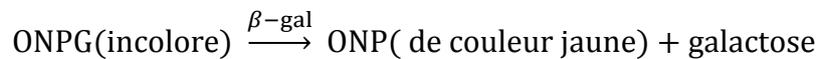
Cette réduction de nitrate en nitrite se fait grâce à la présence d'une enzyme appelé : la nitrate réductase. La recherche de cette enzyme est réalisée par l'ajout de réactif (réactif A et B de Griess) qui donne une couleur rouge en présence de nitrates dans le milieu de culture. Dans le cas où le milieu reste inchangé on ajoute la poudre de zinc qui joue le même rôle que la nitrate réductase vis-à-vis des nitrates (**Boussena, 2019**).

✚ Fermentation du lactose

Le test ONPG ou bien ONPG hydrolase est un test complémentaire permettant la recherche de β -galactosidase qui va scinder le lactose en glucose et galactose. Cette enzyme est inductible c'est-à-dire n'est pas synthétisée par la bactérie que lorsque il y a de l'ONPG.

- Si la bactérie est lactose positif : présence de β -galactosidase comme le genre *Enterobacter*
- Si la bactérie est lactose négatif il y a deux cas :
 - ONPG négatif signifie l'absence de β -galactosidase
 - ONPG positif signifie la présence soit de β -galactosidase qui ne dégrade pas le lactose, soit ONPG hydrolase autre que β -galactosidase (**Delarass, 2007**).

La réaction du métabolisme du lactose et de l'ONPG est la suivante



✚ Fermentation du glucose

Comme la plus part des bactéries, même les espèces d'*Enterobacter* utilisent le glucose (un sucre simple et important). Généralement les milieux les plus utilisés pour l'identification et l'orientation des entérobactéries sont : le milieu de Hugh et Leifson, la gélose TSI basés essentiellement sur la fermentation de trois glucides qui sont le glucose, lactose et du saccharose avec la production d'H₂S (**Mezaini, 2012**).

La dégradation du glucose se fait en anaérobiose et aboutit à la production des acides organiques qui permet l'acidification du milieu par le virage du couleur du rouge au jaune (**Douhane, 2021**).

✚ Production de sulfure d'hydrogène

L'H₂S ou le sulfure d'hydrogène est produit grâce à la dégradation des sulfures ou bien le thiosulfate par les bactéries sulfato – réductrices dans les milieux dépourvus d'oxygène (anaérobiose).

Le sulfure d'hydrogène réagit avec les ions Fe³⁺ du citrate de fer ammoniacal pour former un précipité de sulfure de fer noir (H₂S positif) et qui est absent chez les espèces de la bactérie *Enterobacter* (H₂S négatif) (**Mezaini, 2012**).

✚ Test de mobilité

L'étude de la fermentation du mannitol (caractère biochimique) et la mobilité des bactéries fermentaires (caractère morphologique) dépend de l'utilisation d'un milieu spécifique appelé le milieu mannitol mobilité.

- La dégradation du mannitol se traduit par le virage de l'indicateur colorée du rouge vers le jaune et suite à l'acidification du milieu.
- La mobilité est détectée par l'observation d'un trouble envahissant toute la gélose par contre les bactéries immobile qui pousse seulement toute le long de la pique (**Boussena, 2021**).

Le mannitol est un sucre alcool (polyol) dérivé de la réduction du mannose qui se trouve à l'état naturel chez plusieurs plantes, champignons et essentiellement dans les algues marines avec des quantités importantes. Aussi la fabrication industrielle de cette molécule est possible grâce à l'hydrogénation d'un fructose issu de l'amidon. La découverte de cette molécule est attribuée à Joseph Louis Proust en 1806 (**Laboratorium discounter**).

Test RM-VP

Le bouillon Clark et Lubs est le milieu utilisé pour étudier les voies fermentaires et la fermentation butanediolique chez les entérobactéries et la recherche des acides mixtes (**Mezaini, 2012**).

• **Test RM**

C'est le test nécessaire pour mettre en évidence la fermentation du glucose au cours de l'identification des entérobactéries pour produire du pyruvate puis les acides organiques grâce à au rouge de méthyle (indicateur coloré) qui détecte l'acidification de milieu par un changement de couleur au rouge s'il est positif soit au jaune s'il est négatif (**Mezaini, 2012**).

• **Test VP**

Le test de Voges-Proskauer (VP) fait partie d'une série de tests biochimiques appelée IMViC (Microbiologie clinique). Ce test est employé pour détecter la production d'acétoïne (acétyl-méthyl carbinol) durant la fermentation butylique glycolique, en milieu basique l'acétoïne transformée en butanedione qui réagit avec α -naphthol et provoque une réaction colorée en rouge dans le milieu (**Memo Bio**).

Utilisation du Citrate

Les entérobactéries sont capables d'utiliser le citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie. La détection de ce caractère se fait par le milieu de citrate de Simmons ou de Sodium.

- Les bactéries citrate positif utilisent le citrate de sodium du milieu, produisent une alcalinisation qui fait virer le bleu de bromothymol du vert au bleu en milieu basique.
- Les bactéries citrate négatif ne donnent ni culture ni bleuissement (**Delarras, 2007**)

L'équation de l'oxydation par respiration aérobie du citrate est (**Boussena, 2012**)



Il existe aussi d'autres critères biochimiques utilisés pour faire la différence entre les espèces d'*Enterobacter* représenté dans le tableau 2

Tableau 2 : Caractères biochimiques d'identification des espèces d'*Enterobacter* (ODC+) (Clave, 2011)

	LDC	ADH	Urée	ESC	GEL	βXYL	INO	SOR	SAC	RAF	MEL
<i>E. cloacae</i>	-	+	-	-	V	+	(-)	+	+	(+)	+
Subsp cloacae											
<i>E. cloacae</i> subsp dissolvens	-	+	+f	+	V	+	V	+	+	+	+
<i>E. asburia</i>	-	V	+/-	+	-	+	-	+	+	(+)	V
<i>E. cancerougenus</i>	-	+	-	+	+*	-	-	V	-	-	-
<i>E. hormaechei</i>	-	V	(+)	-	-		-	-	+	-	-
<i>E. kobei</i>	-	+	+/-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. nimiperssuralis</i>	-	-	-	+			-	+	-	-	+
<i>E. aerogenes</i>	+	-	-		V	+	+	+	+	+	+
<i>E. amnigenus 1</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>E. amnigenus 2</i>	-	V	-	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. cowanii</i>	-	-	-	+			-	+	+	+	+
<i>E. gergoviae</i>	V	-	+f	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>E. ludwigii</i>	-	+	-	-v	-		+	+	+	+	+
<i>E. pyrinus</i>			+	+	-		+	-	+	-	+
<i>E. radicintans</i>	-	+	-	+			-	+	+		-
<i>E. sakazakii</i>	-	+	-	+	(+)	+	V	-	+	V+	+

+/- : variable en fonction des méthodes () : Généralement v : variable f : faible

* : c'est à dire à 27C°

Galerie miniaturisée

Les galeries d'identification API sont utilisées pour compléter l'identification bactérienne, ils sont miniaturisés et standardisés de plusieurs tests biochimiques et parmi eux l'API 20E est la plus utilisée. Cette galerie mise en pratique dans l'année 1970, elle permet l'identification de 21 genres d'entérobactéries avec d'autres genres à Gram négatif (Delarras, 2007).

2.4.4. Caractéristiques sérologiques

Au niveau antigénique le genre *Enterobacter* et comme toutes les bactéries entérique possèdent les principaux antigènes sont les suivantes :

- antigène O : c'est l'antigène somatique ou de paroi, composé de lipopolysaccharides (LPS) ou une glycoprotéine thermostable résistant à l'alcool et l'acide située sur la paroi bactérienne des certain souches à Gram négatif .La fraction protéique rend le complexe antigénique, alors que la partie polysidique détermine la spécificité de l'antigène(Carip, 2008). Chez certain espèces cet antigène est lié à une autre partie lipidique provoque une toxicité (l'injection d'endotoxine chez l'homme ou l'animal) et qui est responsable : de la fièvre, leucopénie, hypotension, bradycardie, coagulation intravasculaire disséminée et mort (**Douhane, 2021**).

Le sérodiagnostic des infections à entérobactéries est réalisé par une agglutination d'antigènes O avec des sérums spécifiques. L'étude de ces antigènes est utilisée pour classer en sérotypes ou serovar les bactéries appartenant à une espèce (Douhane, 2021) avec une grande importance épidémiologique surtout dans le cas d'une épidémie.

- antigène H : l'antigène flagellaire qui n'est pas toxique caractérise les espèces d'entérobactéries mobiles telles que le genre Enterobacter, constitué de flagelline de nature protéique et thermolabiles, détruit par l'alcool ou les enzymes protéolytiques (Cristian, 2008).

La réaction d'agglutination se produise par la formation des anticorps anti H spécifiques qui permettent de faire le sérodiagnostic des infections à entérobactéries.

- antigène K ou Vi : l'antigène de capsule ou d'enveloppe de nature polysaccharidique entoure les espèces capsulée des entérobactéries (pour le genre *Enterobacter* on a l'espèce capsulé *Enterobacter aerogenes*). Parmi les antigènes K il existe d'autre antigènes qui sont L, A, B chez certain espèces tel que : *E. coli*, *Shigella* et aussi l'antigène Vi pour certain *Salmonella* ou *Citrobacter* (**Bouzeraa et Berrihil, 2018**).

L'antigène K a la capacité de masquer l'antigène O par ébullition et donc rendre les souches bactériennes qu'elles possèdent inagglutinable par les anticorps anti O, et on peut les récupérer après chauffage (**Ajdakar, 2015**).

La localisation des antigènes O, H, K au niveau d'une entérobactérie est illustré par la figure 2

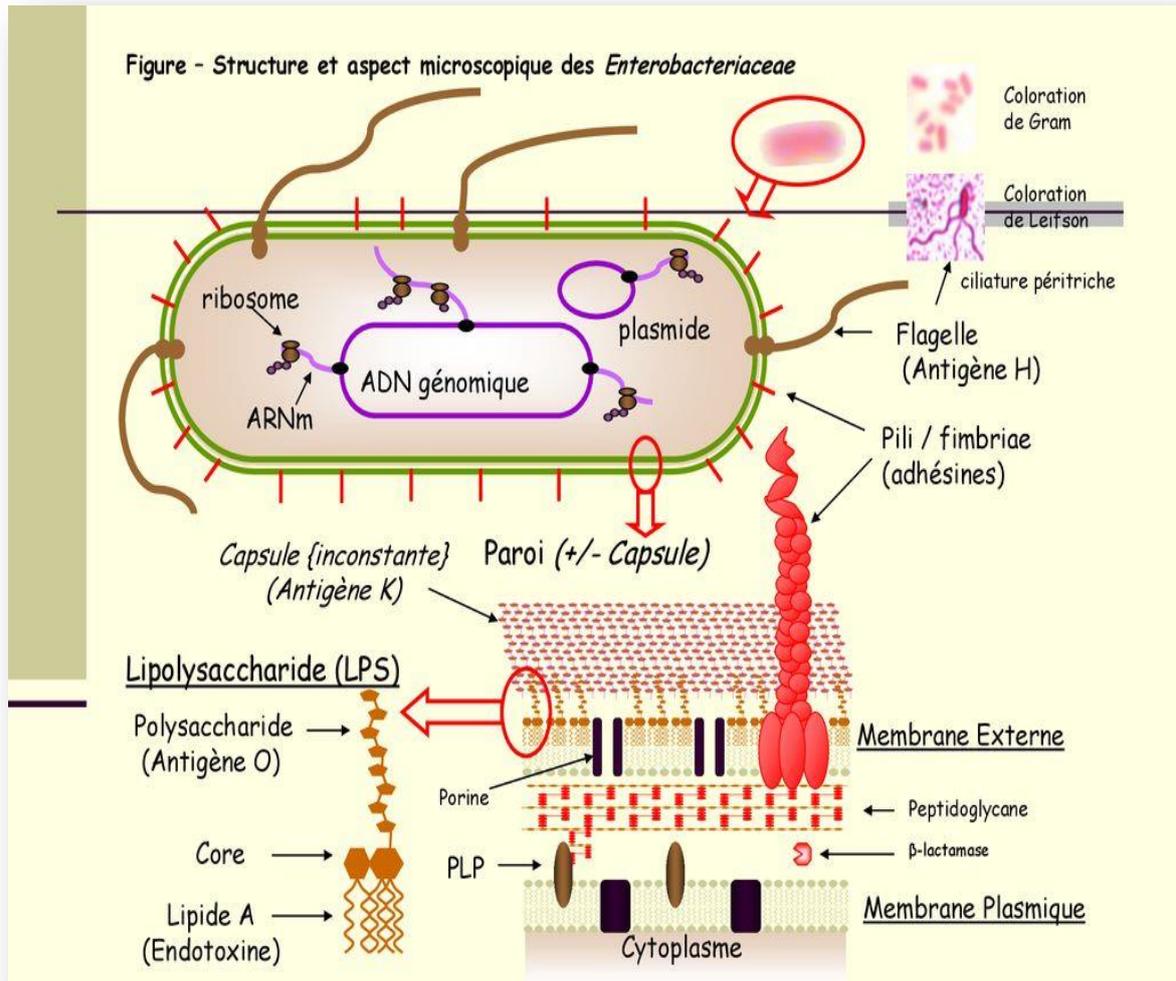


Figure 2 : Structure et aspect microscopique des Entérobactéries (François et al., 2007)

3. Position taxonomique

Aujourd'hui et avec les progrès de la biologie moléculaire et les études phylogénétiques les *Enterobacteriaceae* sont classées sur la base du séquençage des ARNr 5S et 16S (Zalif et Zerkine, 2021).

Le genre *Enterobacter* est classé selon (Bergey's et al., 2008 cité par Mokrani, 2010) comme suit :

Domaine :	Bacteria
Phylum :	Proteobacteria
Classe :	Gamma-Proteobacteria
Ordre :	Enterobacteriales
Famille :	Enterobacteriaceae
Genre :	<i>Enterobacter</i>
Espèces :	<i>Enterobacter sp.</i>

4. Voie de transmissions et source de contamination

Les infections et les maladies causées par les espèces du genre *Enterobacter* peuvent être transmises par deux voies, endogène si la flore intestinale est propre au patient ou par voie exogène d'un patient à un autre.

4.1. Voies de transmission

- Peau
- Digestive
- Muqueuses (nasale, buccale, oculaire)
- Contamination féco-orale
- Transmission par des objets contaminés entrant en contact avec les muqueuses (**microbes edu**)

4.2. Sources de contamination

- Les selles
- L'eau contaminée
- Les mains contaminées
- Les objets contaminés
- Les mains contaminées (**microbes edu**)

5. Pouvoir pathogène

Enterobacter sp. possède un pouvoir pathogène et une virulence qui lui permet d'être une bactérie pathogène opportuniste capable de causer des infections et des maladies divers chez l'homme, l'animal et même chez les végétaux (**Davin-Regli, Lavigne et Pages, 2019**).

La présence des flagelles chez la famille des Enterobacteriaceae confère la motilité et en plus assurer plusieurs d'autres fonctions tels que : la formation de biofilm, l'adhésion et l'exportation de protéines (**Douhane, 2021**).

Les espèces d'*Enterobacter* ont la particularité de produire des endotoxines (LPS) qui sont des indices de pathogénicité. Plus que ça in vitro ils ont la capacité de sécréter des entérotoxines, des α -hémolysines et des cytotoxines qui ressemblent de type Shiga toxine II. Au-delà, grâce au système de sécrétion de type III (SSPIII) la bactérie injecte les vecteurs de virulence au niveau des cellules hôte et pour leur métabolisme et l'établissement de l'infection, elle assimiler le fer par l'intermédiaire des sidérophores qui joue le rôle des chélateurs (**Davin-Regli, Lavigne et Pages, 2019**).

Les souches de l'*Enterobacter cloacae* (ECC) ont la capacité de provoquer l'apoptose des cellules Hep-2 (**Douhane, 2021**) notamment *E.hormaechei* est considérée comme la plus virulent en raison de la présence d'un îlot de haute pathogénicité (HPI) fréquemment détecté sur son chromosome (**Davin-Regli, Lavigne et Pages, 2019**).

Ce germe pathogène est responsable à des infections nosocomiales y compris la pneumonie, l'infection des vois urinaires, l'infection sanguine, la bactériémie, infection tissulaire et des septicémies dues à la contamination des préparations pour nutrition parentérales conservé au réfrigérateur, la méningite, abcès cérébraux, infection de plaies, les infections de la cavité abdominales et ophtalmiques et d'autres (**Gouvernement of Canada**).

6. Epidémiologie

En 1970 l'espèce *Enterobacter sp.* a été déclarée comme un agent pathogène nosocomial, bien qu'elle est beaucoup moins fréquemment rencontrer que les souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella* (Sanders et Sanders,1997).Généralement ce type d'infection dans l'unité de la réanimation touche les patients immunodéprimés comme les patients souffrant de diabète, les nouveau-nés et les prématurés, les brulés et polytraumatisés et les patients atteints de leucémie (**Davin-Regli, Lavigne et Pages, 2019**).

L'allongement de la durée de séjour dans les établissements de soins et les dispositifs médicaux (cathéter, sonde urinaire, sonde endotrachéale ...) sont considérés aussi comme des facteurs de risques qui causent des infections dues principalement aux espèces d'ECC (**Douhane, 2021**).

En France en 1976, *E. gergoviae* a été isolé à partir d'échantillons respiratoires de plaies d'hémoculture, des urines sont déclarés comme agents épidémiologiques causent des

bactériémies chez les nouveau-né (**Ganeswire et al., 2003 cité par Davin-Regli, Lavigne et Pages, 2019**).

7. Traitement

Les infections à *Enterobacter* sont des infections graves avec un taux de mortalité élevé, même avec un traitement approprié .L'équipe interprofessionnelle peut être composée des experts en maladies infectieuses, des microbiologistes, des pharmaciens, des infirmiers et des physiothérapeutes.

- Les experts en maladies infectieuses aident à la détermination de la gestion appropriée et le besoin de dispositifs médicaux invasifs ou de cathéters.
- Les microbiologistes peuvent avoir besoin d'effectuer des tests spécialisés.
- Les pharmaciens peuvent être familiers avec l'antibiogramme de la communauté et aider également l'équipe de soins de santé dans l'orientation du traitement.
- Les infirmières peuvent encourager des protocoles de contrôle des infections et être conscients des effets secondaires des médicaments pour informer le reste de l'équipe de soins de santé. Étant signalé que de nombreux patients infectés par *Enterobacter* sont faibles, les physiothérapeutes sont aussi utilisés dans leurs soins (**Joshua et al., 2016**).

Les antibiotiques sont utilisés en médecine pour la lutte contre les infections d'origines bactériennes chez l'homme et même chez les animaux. Le choix d'un antibiotique ne se fait pas de façon au hasard mais en fonction de leur efficacité sur la bactérie responsable de l'infection a traité. Alors que un antibiotique spécifiée pour un groupe des bactéries précise tels les bactéries à gram négatif est qualifié comme un antibiotique à spectre étroit c'est-à-dire il ne tue que un nombre limité de bactéries responsable de la maladie et laissant en vie les autres bactéries (**Walsh, 2003 cité par Gadou, 2019**).

Notamment, les infections dus à l'espèce *Enterobacter sp.* ont un traitement spécifique et parmi les grandes familles d'antibiotiques administrées nous pouvons citer : les β -lactamines y compris les carbapénèmes dont les plus efficace sont (imipenème, méropénème, doripénème, ertapénème) les inhibiteurs de β -lactamses, les fluoroquinolones, les

aminoglycosides, le sulfaméthoxazole et aux triméthoprimes .La tigécycline s'est également révélée efficace in vitro (**Joshua et al., 2016**).

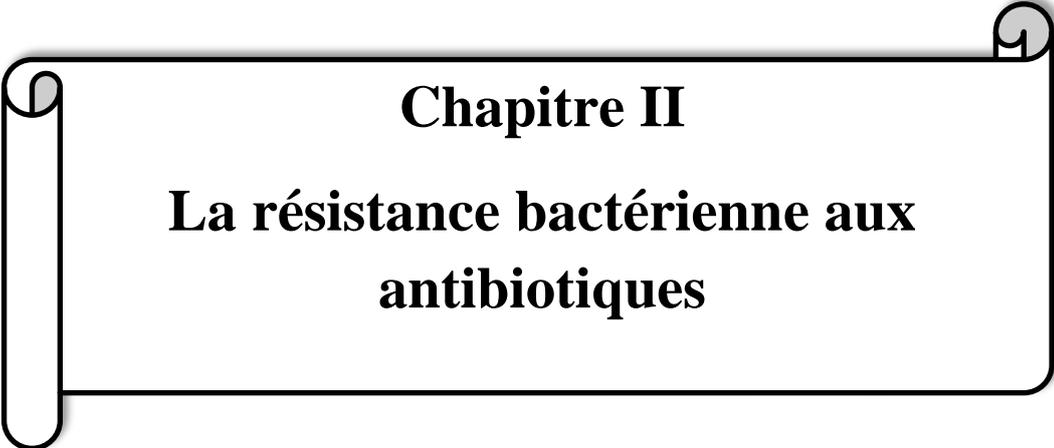
La résistance aux antibiotiques est un problème de santé croissant en ce qui concerne le traitement des infections à *Enterobacter sp.* Les espèces *E.aerogenes* et *E.cloacae* sont caractérisées par une résistance naturelle à l'Amoxicilline, à Amoxicilline-Clavulanique, à la Céfalotine et à la Céfoxitine (**Joshua et al., 2016**).

Les céphalosporines de première et de deuxième génération ne sont pas généralement efficaces contre les infections à *Enterobacter*, bien que le traitement avec une Céphalosporine de troisième génération peut entraîner une infection multi- résistante.

Les céphalosporines de troisième génération sont susceptibles d'induire ou de sélectionner des variantes génétiques d'*Enterobacter* dérégulés de la β -lactamase AmpC, conduisant à la surproduction de l'enzyme et au développement d'une résistance. L'utilisation de céphalosporines de troisième génération n'est pas recommandée dans les infections graves à *Enterobacter* en raison de la probabilité accrue de résistance, en particulier chez *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, deux des espèces d'*Enterobacter* les plus pertinentes sur le plan clinique (**Joshua et al., 2016**).

Généralement la bactériémie à *Enterobacter* résistants aux Céphalosporines est significativement plus élevée que celle associée à la bactériémie sensible. Les espèces associées à la bactériémie à *Enterobacter* sont : *E. aerogenes*, *E. asburiae*, *E. agglomerans*, *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. sakazaki*, *E. gergoviae* et *E.hormaechei* (**Kang et al. 2004 cité par Anju, Siddardha et Dyavaiah, 2020**).

La thérapie combinée est suggérée pour prévenir l'émergence d'*Enterobacter* souches résistantes. La thérapie combinée est plus efficace que la monothérapie car l'organisme ne deviendra résistant qu'à un seul des deux médicaments administrés et restera sensible aux autres médicaments. Même une utilisation plus judicieuse des Céphalosporines de troisième génération peut réduire la prévalence de la bactériémie nosocomiale multi-résistante associée à *Enterobacter sp.* (**Chow et al.,1991 cité par Anju , Siddardha et Dyavaiah, 2020**).



Chapitre II

La résistance bactérienne aux antibiotiques

1. Historique

La découverte des antis infectieux particulièrement les antibiotiques c'est l'une des découvertes merveilleuses et les plus importants dans le domaine de la médecine et qui a permis de prolonger et de sauver les vies des millions des personnes à travers le monde.

Des 1877, Pasteur et Joubert mettent en évidence la découverte d'antagonisme microbien des cultures des bactéries charbonneuses poussent mal lorsqu'elles sont souillées par certain bactéries saprophytes. Mais en 1889 le terme d'antibiote ou antibiosis (en anglais) a été introduit par un mycologue français Jean-Paul Vuillemin pour décrire une situation dans laquelle un microorganisme détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie.

En 1912, Vandenner montra que les extraits obtenus à partir d'*Aspergillus fumigatus* avaient une activation anti – staphylococcique.

Ce grand accomplissement scientifique a été attribué à Alexander Fleming en 1928 qui a donné naissance au premier antibiotique « La pénicilline G » à partir d'un champignon « *Penicillium glaucum* », mais le lancement de la production industrielle de cette pénicilline est réalisé officiellement en juillet 1941 grâce à H. Florey et un de ses assistants.

En 1935, c'est la découverte des sulfamides et en 1940, le terme d'antibiotique a été proposé par R.Dubos. Wakdman a isolé l'actinomycine produite par une *Streptomyces* et il découvre la streptomycine active en particulier sur le bacille de Koch (**Ramdani B.N., et al ,2009 cité par Bouzeraa et Berrihil, 2018**).

L'utilisation des antibiotiques a représenté la plus avancée en médecine au cours de la moitié du 20^{ème} siècle pour traiter les maladies infectieuse causées par les bactéries pathogènes et qui sont à l'origine des millions de décès chaque année mais leur distribution est limitée à cette époque grâce aux preuves de leur efficacité dans les traitements de ces maladies mortelle. Au cours de cette période, nombreux antibiotiques sont découvertes et commercialisés : Chloramphénicol, Tétracyclines en 1949, Aminosides en 1950, Macrolides en 1952, Glycopeptides en 1958, Streptogramines en 1962, Triméthoprime en 1970 et Oxazolidinones en 2000(**Ramdani B.N., et al ,2009 cité par Bouzeraa et Berrihil, 2018**). **(Figure3)**

Mais ces bénéfiques sont aujourd'hui victimes de son succès à cause de l'usage abusif de ces médicaments et donc notre vie est menacée par un problème de la résistance aux antibiotiques.

En réalité, ce phénomène était tout à fait prévisible, et en 1945, Alexander Fleming, lors de la conférence qu'il donna au cours de la cérémonie de remise du Prix Nobel, mettait déjà en garde la communauté scientifique du danger encouru lors d'un usage inapproprié (Fleming, 1945 cité par Muylaert et Mainil, 2012).

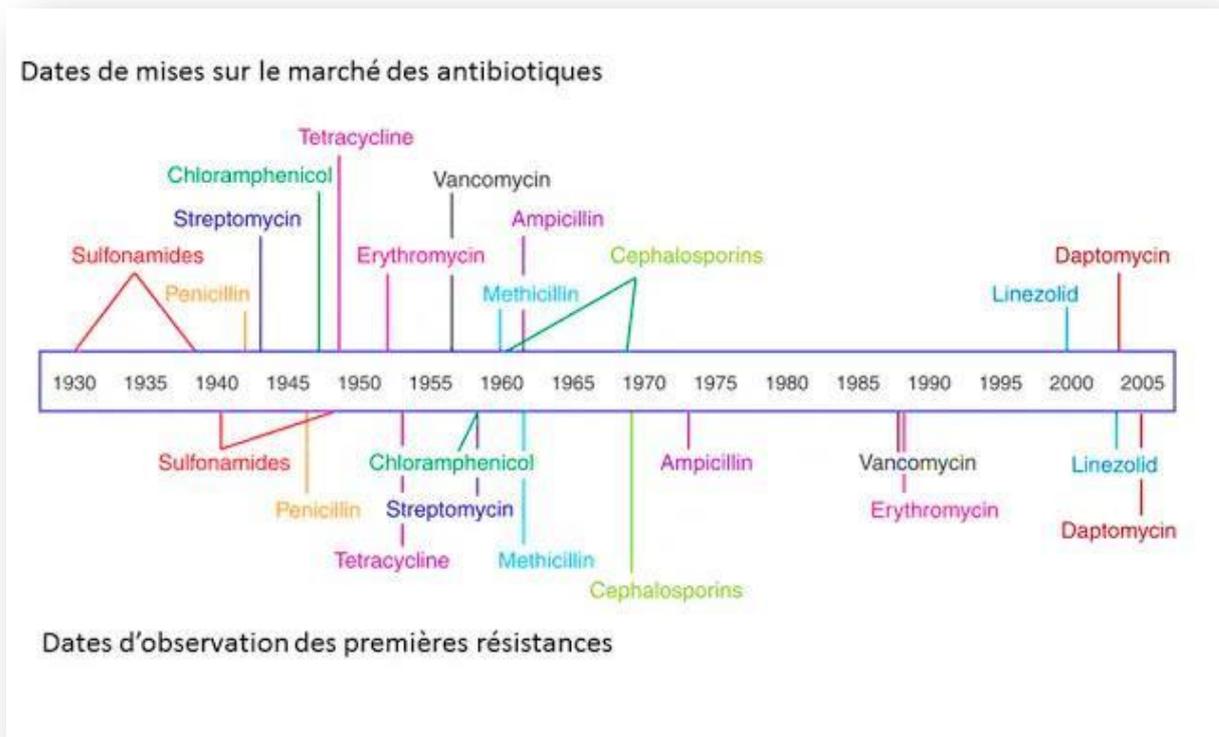


Figure 3 : Ordre chronologique des mises sur le marché des différentes classes d'antibiotiques et l'apparition des premières résistances microbiennes (Clatworthy, 2007)

2. Définition des antibiotiques

L'étymologie du mot antibiotique signifié du grec anti « contre » et bios qui concerne « la vie ». Ces antibiotiques sont des médicaments connus comme étant des molécules d'origine organiques naturelles, fabriqués à partir des cultures des microorganismes comme les bactéries et divers champignons et le plus souvent sont synthétiques ou bien semi synthétiques (Muylaert et Mainil, 2012 cité par Zalif et Zerkine, 2021) .

Ces composés sont généralement utilisés pour traiter les maladies et les infections bactériennes tels que (angines bactériennes, pneumonie, cystites, les infections urinaires, septicémies, méningites ...) et parfois et dans certain cas particulier ils sont utilisés comme traitement pour les infections virales présentant des symptômes souvent similaires (grippe, bronchite aiguë, rhume ...).

Ces molécules antibactériennes sont capables d'inhiber (action bactériostatique à faible dose) ou bien de détruire (action bactéricide à forte dose) principalement les bactéries qui ont le rôle d'agents infectieux, sachant que ce pouvoir de toxicité est sélectif vis-à-vis ces germes pathogènes mais sans exercer un effet toxique sur leur organisme hôte (**Benmedakhen, Benzine et Gharbi, 2016 cité par Abdelmalek et Lezzar, 2016**).

3. Classification des antibiotiques

Pour mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on procède à leur classification selon certains critères comme suite :

- Selon l'origine : les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle secrétées par des microorganismes ou fabriquées industriellement c'est-à-dire synthétiques ou semi synthétiques.
- Selon le mode d'action : les antibiotiques agissent de manière spécifique sur la cible, soit par inhibition de la synthèse protéique et de la paroi bactérienne, sur la perméabilité de la membrane cytoplasmique et notamment le métabolisme des acides nucléiques.
- Selon le spectre d'activité : les antibiotiques ont un spectre étroit ou bien un spectre large.
- Selon la nature chimique : Cette classification est basée essentiellement sur la structure de base ou bien le noyau par exemple le cycle β -lactame (**Auckenthaler et al. 1995, Yala et al, 2001 cité par Abbas et Bouazza, 2020**).

Le tableau 3 représente les principales familles d'antibiotiques

Tableau 03 : Principales familles d'antibiotiques (Paolozzi I., et Liebart J.C., 2015 cité par Bouzeraa et Berrihil, 2018)

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, carpénèmes, monobactames
Glycopeptides	Heptapeptide cyclique liant un sucre (mannose, glucisamine ou glucose)	Téicoplanine, vancosamine, vancomycine
Tétracyclines	Noyau naphtacène – carboxamidetétracyclique lié à des substituants en position 5, 6,7	
Macrolides et apparentés	Anneau macrolique modifié par un ou plusieurs sucres	
Phénicolés	Dérivés de l'acide dichloroacétique et d'un phénylsubstitué	Chloramphénicols, thiamphénicoles
Aminosides	Aminocyclitol, lié à 2 ou rarement 3 oses	Streptomycines
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	
Triméthoprim	Diaminopyrimide	Inhibiteur compétitif la dihydrofolate- réductase
Polymyxines	Antibiotiques peptidiques cycliques	Polymyxines B et E

4. Mécanisme 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. Chaque famille d'antibiotiques agit sur des cibles spécifiques, certains empêchent la formation de leurs enveloppes protectrices (membranes et paroi) et d'autres agissent en bloquant certaines réactions chimiques indispensables à leur métabolisme. (Figure 4)

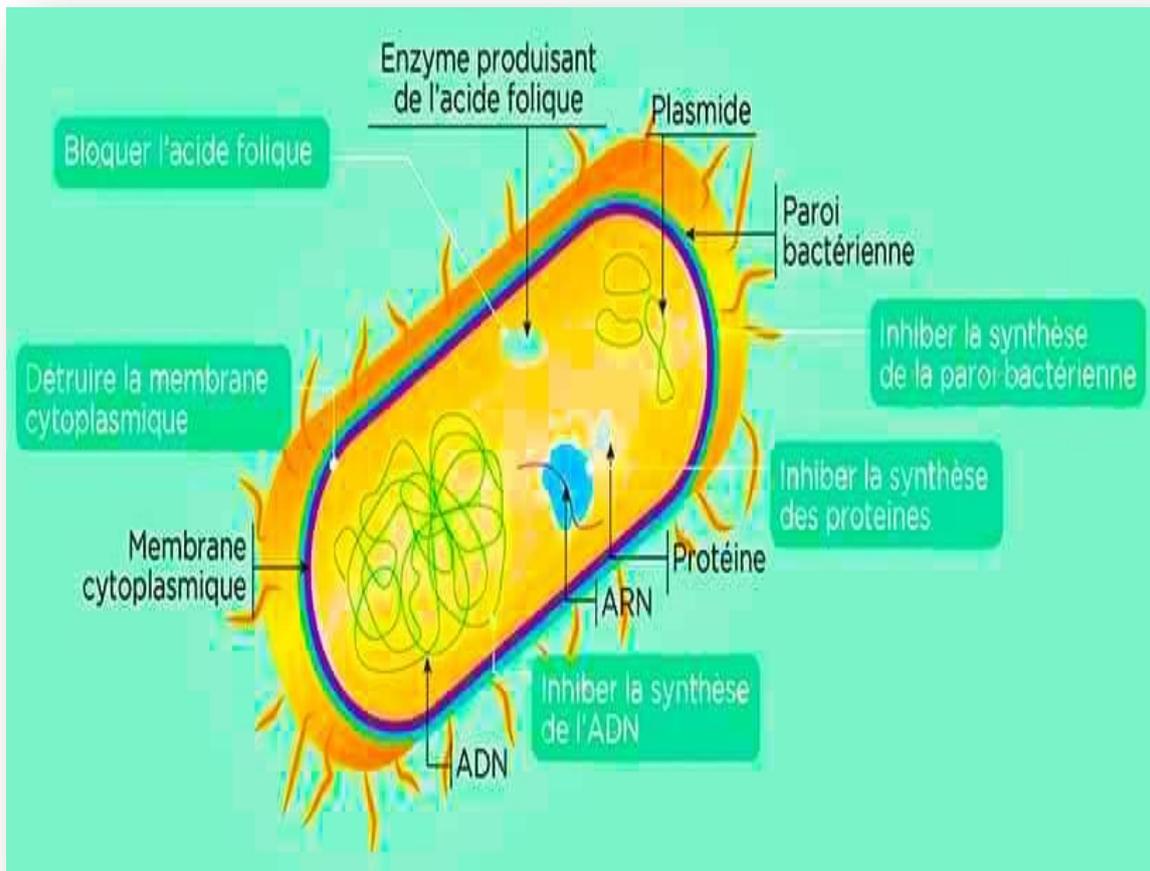


Figure4 : Représentation schématique illustrant les différents modes d'action des antibiotiques (Boulaḥlib et Gherraz, 2020)

5. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique dans le monde entier et spécifiquement en Algérie. En effet ces dix dernières années, nous

avons constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à Gram négatif.

5.1. Définition de la résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe plusieurs définitions pour l'expression « résistance bactériennes aux antibiotiques » qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques). Les définitions les plus employées basées sur les critères microbiologiques (résistance in vitro) et sur les critères cliniques (résistance in vivo) (**Muylaert et Mainil, 2012**).

La résistance aux antibiotiques ou bien l'antibiorésistance est un fait qui consiste à la capacité d'un micro-organisme à devenir résistant aux antibiotiques. Dans ces conditions une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique lorsque elle développe des méthodes de survie efficaces et évoluer en présence de cet antibiotique, même avec des concentrations élevées qui peuvent inhiber et tuer les autres souches de la même espèce bactérienne (**OMS, 1961 cité par Saadaoui, 2008**).

Cette résistance n'est pas un phénomène nouveau, depuis la découverte des antibiotiques, chaque nouvelle génération est caractérisée par l'apparition des mécanismes de résistances propre à lui. En 1941 la pénicilline a été utilisée comme un médicament et a été administré aux premiers patients et en 1941 les premières bactéries résistantes à cette pénicilline sont détectée 1970, les premières bactéries multi-résistances apparissent (BMR) et la découverte de bactéries hautement résistantes (BHRe) a eu lieu dans les années 2000 (**Ministère de la santé et de la prévention**).

5.2. Type de résistance bactérienne

Il existe deux types de résistances aux antibiotiques chez les bactéries, elles peuvent être naturelles ou acquises.

5.2.1. Résistance naturelle

On parle de la résistance naturelle ou intrinsèque lorsque toutes les souches d'un même genre ou d'une même espèce bactériennes sont résistantes naturellement a un antibiotique donné ou à nombreux antibiotiques.

La résistance naturelle est un caractère stable et héréditaire transmis à la descendance et porté par le chromosome bactérienne (**Saadoun, 2020 cité par Laafifi et Bahi, 2021**).

5.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise représente plus de 80% et qui consiste à un ou bien plusieurs souches bactériennes qui sont à l'état naturel sensible à un antibiotique, Mais elles deviennent résistantes à cet antibiotique avec le temps. Ce phénomène ne concerne que certaines souches d'une espèce donné (**Benmedakhen, Benzine et Gharbi, 2016 cité par Abedelmalek et Lazzar, 2016**).

C'est une résistance due à une modification génétique par mutation ou par l'acquisition de matériel génétique étranger. C'est une caractéristique de certaines souches de même espèce. La reconnaissance des résistances acquises permet la détermination des phénotypes « résistants » (**Gaudyc., et Buxeradu J., 2005 cité par Bouzeraa et Berrihili, 2018**).

Résistance par mutation chromosomique

Ce mécanisme de résistance résulte par la présence d'une recombinaison ou lorsqu'une mutation spontanée s'installe au niveau du génome, cette dernière provoque le changement de la cible et rende son interaction avec l'antibiotique très difficile à réaliser. Dans le cas d'une recombinaison, les fragments de gènes sont transférés d'un endroit à un autre au niveau de chromosomes, 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 cité par Zalif et Zarkine, 2021**).

Résistance par acquisition des gènes étrangers (Extra- chromosomique)

Ce phénomène de transfert de résistance horizontal est dû à la synthèse de protéines. Ces protéines peuvent conférer la résistance au nouvel hôte selon quatre mécanismes principaux (en diminuant la concentration intracellulaires de l'antibiotique ou inactiver l'antibiotiques par la perte de d'affinité de celui-ci pour sa cible, modifier la cible de l'antibiotique ou le mécanisme d'efflux actif).

Ce type de résistance se fait entre les bactéries par l'intermédiaire des éléments génétiques mobiles comme les transposons ou porté par les plasmides.

Les voies d'acquisition de ces éléments génétiques mobiles sont de plusieurs types (la conjugaison bactérienne pour le transfert de plasmides, transformation bactérienne et la transduction par les bactériophages) (**Zogheib et Dupont, 2005 cité par Zalif et Zerkine, 2021**).

- **Conjugaison**

Ce système de transfert d'ADN a été découvert pour la première fois en 1947, c'est un processus qui nécessite un contact physique entre la bactérie donatrice (male) et la bactérie réceptrice (femelle). Chez les bactéries à Gram négatif les bases de ce contact dépendent de la formation de pili sexuelles.

Le transfert génétique par la conjugaison peut se réaliser entre les bactéries ayant les mêmes caractères ou proche phylogénétiquement et possible aussi entre les bactéries à Gram différent (**Courvalin et al., 2006**).

- **Transformation**

C'est le résultat d'un réarrangement des séquences d'ADN échangées entre deux bactéries provoque 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 cité par Zalif et Zerkine, 2021**).

- **Transduction**

C'est le mécanisme au cours duquel des gènes bactériens sont transférés d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire de phages. Ce mécanisme est répandu chez tous les genres bactériens et est rendu possible suite à ça l'encapsulation d'une portion d'ADN chromosomique ou plasmique. Si les séquences d'ADN entrantes sont homologues (compatible) avec le chromosomique de l'hôte elles peuvent alors s'y intégrer (recombinaison homologue). Les plasmides peuvent être maintenus à l'état répliatif dans le cytoplasme de l'hôte.

Il existe deux types de transduction

- généralisée (aléatoire) qui conduit à une lyse cellulaire
- spécialisée (sites flanquant le site d'intégration)

Les trois mécanismes de la résistance acquise (Conjugaison, transformation et transduction) sont représentés dans (la figure 5)

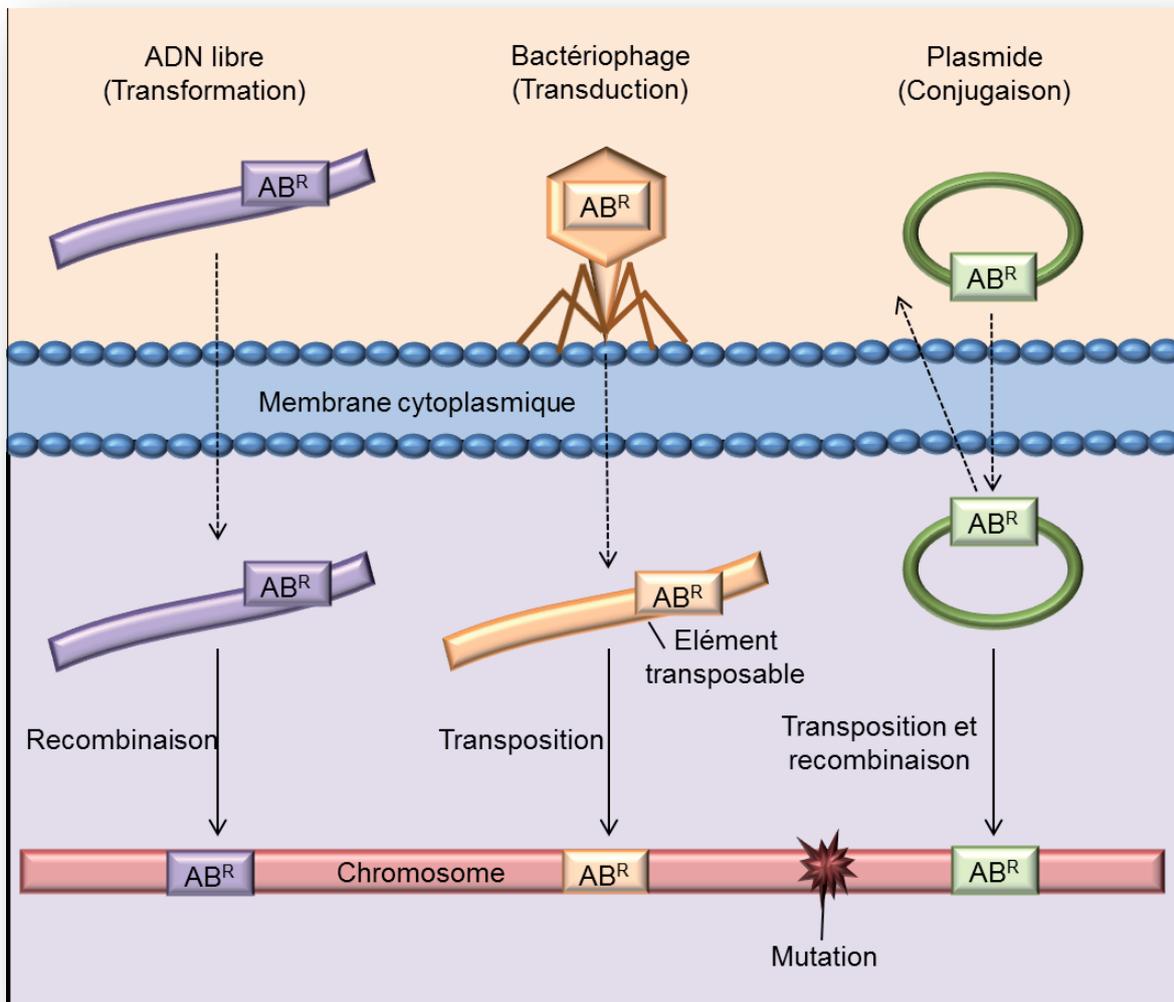


Figure5 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques (Aleskshun et Levy, 2007 cité par Muylaert et Mainil, 2012)

6. La résistance d'*Enterobacter* aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un problème de santé croissant en ce qui concerne le traitement des infections à *Enterobacter* et parmi ces familles d'antibiotiques nous retrouvons principalement :

6.1. β – lactamines

6.1.1. Définition

Les β -lactamines sont l'une des familles d'antibiotiques la plus utilisée grâce à son importance dans le domaine thérapeutique, d'origine naturelle ou semi – synthétiques. Sur le plan structural ces molécules ont un cycle β -lactame (4 chaînons) qui est un élément commun entre eux.

Selon la nature de l'hétérocycle accolé au cycle β -lactame on classe cette vaste famille en quatre groupes essentiels regroupe(les pénames : les pénicillines et les céphalosporines, les monolactemes : les monobactames, les céhemes : carbapénèmes) (**Makhlouf, 2019**).

L'importance de l'utilisation de ce médicament soit de manière seul ou en association est dû aux plusieurs avantages tels que la variété de son mode d'administration, son large spectre d'activité antibactérien et leur action bactéricide, la bonne diffusion tissulaire, la tolérance et un faible nombre d'interaction médicamenteuse (**Cavallo et al., 2004 cité par Gadou, 2019**)(figure 6)

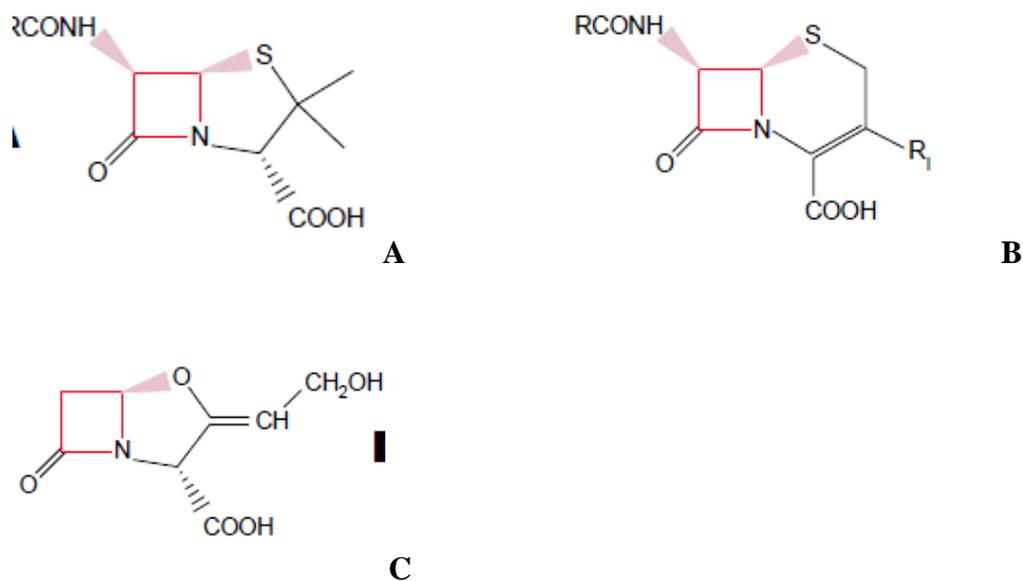


Figure 6 : Structure de quelques β -lactamines (**Bryskier, 1999 cité par Gadou, 2019**)

A= Pénicillines ; **B**= Céphalosporines ; **C**= Acide clavulanique

6.1.2. Mode d'action

Hormis quelques exceptions toutes les bactéries sont caractérisées par la présence d'une paroi bactérienne constituée par différents enveloppe (la membrane externe, le peptidoglycane, la membrane cytoplasmique)

Les cibles des β -lactamines sont des protéines membranaire spécifique appelés les protéines liant la pénicilline(PLP), localisées sur la surface externe de la membrane cytoplasmique et pénètrent à l'intérieur de la bactérie à partir de la membrane externe. Cette famille d'antibiotique agissent en inhibent la synthèse de la paroi bactériennes par la création d'une liaison à (PLP) (Courvalin et al., 2006).

Ces PLP sont un groupe d'enzymes regroupent les transpeptidases, transglycosylases, carboxypeptidases qui catalyse les réactions de transpeptidation, transglycosylation et carboxypeptidation et impliquer dans la synthèse et le remodelage des chaînes polysaccharidiques et les liaisons peptidoglycane ou les constituant principal de la paroi bactérienne. La fixation des β -lactamines sur les PLP est facile parce que ces derniers présentent une analogie structurale entre le noyau β -lactame et le dipeptide terminal D-Ala-D-Ala, qui représente le substrat naturel de ces PLP (Courvalin et al., 2006).

La fixation des β -lactamines au niveau de site actif des PLP conduit à la formation d'un complexe pré-covalent puis ces β -lactamines vont subir l'ouverture de leur cycle β -lactame qui bloque le fonctionnement des PLP et catalyse la synthèse des inhibiteurs des autolysines. Ces inhibiteurs provoquent l'inactivation de la formation de peptidoglycane et enfin l'effet auto-suicide et la lyse bactérienne (Courvalin et al., 2006).

6.1.3. Résistance aux β - lactamines

La résistance d'*Enterobacter sp.* aux β -lactamines est due principalement à l'inactivation de l'antibiotique par la production d'enzymes (β -lactamases) avec les autres mécanismes de la résistance acquise tels que la diminution de la perméabilité membranaire, l'excrétion de l'antibiotique par des systèmes d'efflux et la modification des protéines de liaison à la pénicilline (Courvalin et al, 2006 cité par Gadou ,2019).

• Inactivation enzymatique par les β -lactamses

Chez les bactéries notamment le genre *Enterobacter*, l'inactivation enzymatique de l'antibiotique est le mécanisme le plus répondu , elle se fait par la sécrétion des enzymes qui inactivent l'action d'antibiotique avant même qu'il ait pénétré dans la bactérie (Mangin, 2016).

Les β -lactamses sont des enzymes produites par les bactéries, qui hydrolysent le noyau β -lactame commun à toutes les β -lactamines, rendant l'antibiotique inactif avant qu'il n'atteigne sa cible. Elles sont codées par des gènes chromosomiques ou plasmatiques (**Gangoue, 2007 cité par Aggoun, 2012**)(figure7)

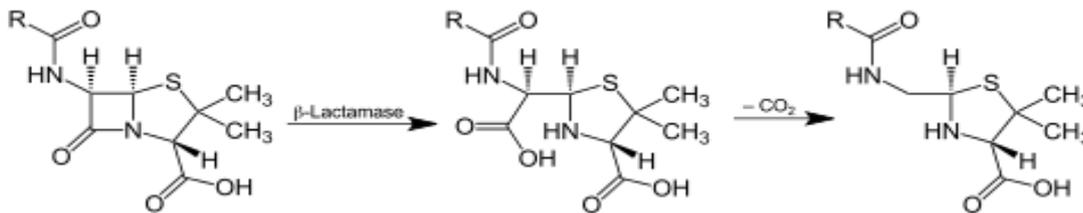


Figure7 : L'hydrolyse de cycle β -lactamine par les enzymes β -lactamses (**Wikipédia**)

- **Diminution de la perméabilité ou l'imperméabilité**

La membrane bactérienne des bactéries à Gram négatif comme les entérobactéries est caractérisée par la présence d'une couche externe composée de lipopolysaccharides (LPS) qui couvrent la totalité de surface cellulaire et de phospholipides qui jouent le rôle d'une barrière pour ralentir la pénétration des antibiotiques hydrophobes (**Paolozzi et Liebart, 2015 cité par Gadou, 2019**).

Les β -lactamines sont des composés hydrophiles qui ont la capacité de pénétrer ce type de barrière grâce à des porines situées au niveau de la membrane et permettant le transport passif des nutriments et d'autre substances (**Benz, 2004 cité par Gadou, 2019**).

La diminution de l'imperméabilité ou l'imperméabilité est apparue si une mutation touche les porines et altère leurs structure ou provoquent la diminution de leurs synthèses (**Saadaoui, 2008**).

Des résistances acquises dues à une diminution de perméabilité de la paroi ont été rapportées chez *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Enterobacter* suite à une altération quantitative ou qualitative des porines (**Ramoul, 2013 cité par Boulahlib et Gherraz, 2020**).

- **Système d'efflux**

L'exportation active est l'un des processus de la résistance aux antibiotiques établis chez quelques bactéries, elle se fait grâce à des transporteurs appelés pompes d'efflux (**Cattoir, 2004 ; Yang et al., 2009 cité par Boulahlib et Gherraz, 2020**).

Ces pompes à efflux ou les transporteurs actifs sont utilisées par les bactéries pour diminuer la concentration intracellulaire des molécules toxiques étrangères comme les antibiotiques et pour assurer leur fonctionnement, ils ont besoin d'une énergie sous forme ATP ou un gradient électrochimique transmembranaire (**Mangin, 2016**).

- **Modification des Protéines de liaison à la Pénicilline**

Ce type de modification est rencontré plus chez les bactéries à Gram positif que les bactéries Gram négatif. Lorsque un antibiotique est en contact avec la bactérie, sa cible subit une modification ou bien remplacée par une autre dans ce cas-là ce dernier ne peut pas exercer son action et perd son affinité (**Mangin, 2016**).

Dans le cas des β -lactamines, leur affinité pour leur cible est modifiée et diminuée à cause d'une synthèse de nouvelles PLP. Cette modification peut s'opérer par des mutations qui touchent les gènes codant pour les PLP soit par l'acquisition de gènes ou fragments des gènes étrangers (**Mangin, 2016**).

Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et une diminution de la quantité de la PLP. Ce mécanisme de résistance est très rare chez les entérobactéries (**Faure, 2009 cité par Boulalib et Gherraz, 2020**).

Ces quatre mécanismes de résistances à cette famille d'antibiotiques sont illustrés dans la figure 6

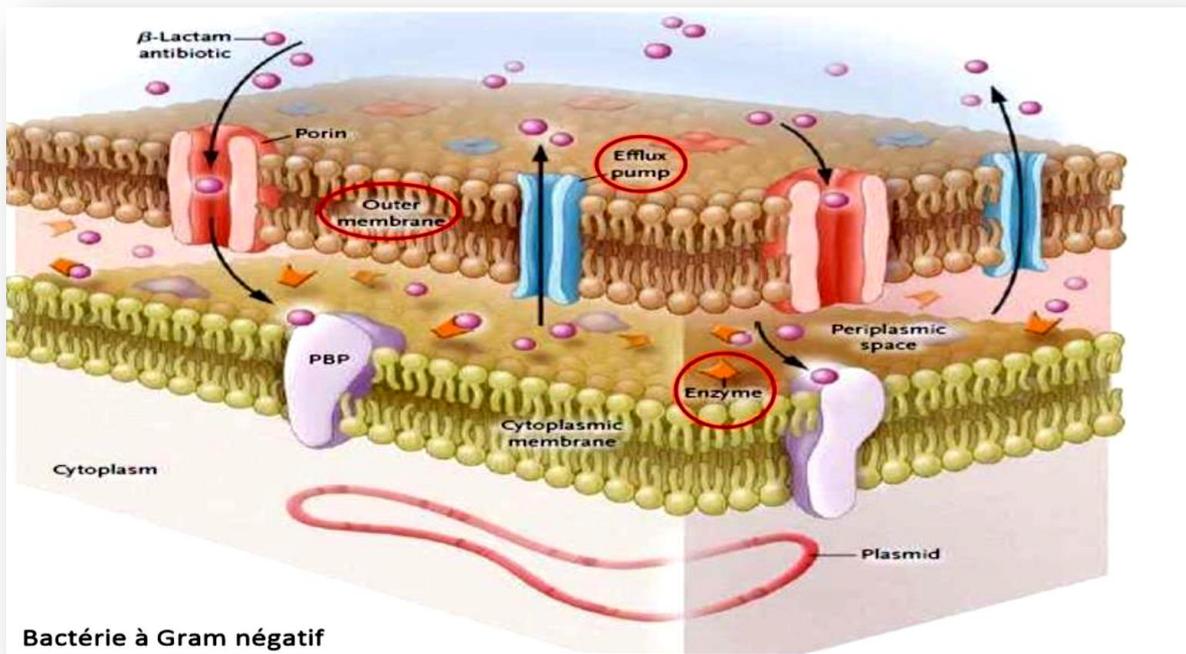


Figure 8 : Mécanismes de résistance des entérobactéries aux β -lactamines (Belval, 2016 cité par Laafifi et Bahi ,2019)

6.2. Aminosides

6.2.1. Définition

Les aminosides ou les aminoglycosides, cette famille d'antibiotique connus comme étant des molécules bactéricides, hétérosides naturels ou héli synthétique formés par un ou plusieurs glycosides. (Yala et al. 2001). Leur action bactéricide rapide avec leur dose dépendante ronde l'utilisation de ces médicaments important au niveau thérapeutique (Vakulenko et Mobashery ,2003 cité par Gadou, 2019).

Les aminosides naturels sont extraits à partir des cultures des Actinomyces comme *Streptomyces*, *Micromonospora* et *Nocardia* ou à partir des souches de *Bacillus* (le Minor et Véron, 1989). Ces sucres amines ont un large spectre antibactérien dirigé particulièrement contre les bactéries à Gram négatif, peu sensibles aux pénicillines et aux sulfamides (Toumi ,2008).

6.2.2. Classification des aminosides

En 1979, les aminosides sont classés par Umezawa puis en 1995 sont reclassés grâce à Bryskier (Yala et al., 2001) selon leurs structures de base ces molécules sont regrouper en trois groupes essentiel qui sont (le Minor et Véron, 1989).

- Les désoxystreptamines bisubstituées en 4 et 5 sont néomycine et paromycine
- Les désoxystreptamines bisubstituées en 4,6 sont Kanamycine, tobramycine, dibékacine, amikacine, gentamicine, sisomycine et nétilmycine
- Les autres aminosides tels que apramycine, fortimycine, hygromycine B, kasugamycine, sorbistine, spectinomycine et streptomycine

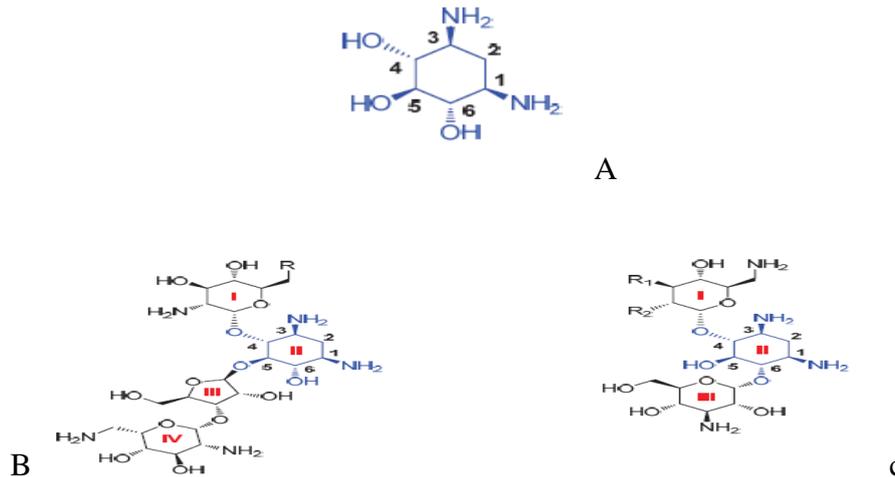


Figure 9 : Structure de quelques aminosides (Poole, 2005 cité par Gadou, 2019)

Le cycle central **DOS** est indiqué en bleu

A : Désoxystreptamine (DOS) **B** : Paromomycine (R = OH) Néomycine (R= NH₂)

D : Kanamycine (R₁ = OH, R₂= OH)

6.2.3. Mécanisme d'action des aminosides

L'action des aminosides se déroule en 3 étapes

- La première étape est un passage qui permet la traversée de la membrane externe à travers les porines, puis la traversée du peptidoglycane. Les aminosides se concentrent alors au niveau de la membrane cytoplasmique (**Changeur et Cherruault ,2009 cité par Gadou, 2019**).
- La deuxième étape requiert la production d'énergie pour le transport des aminosides. Cette énergie est fournie par des métabolismes oxydatifs (**Bryskier, 1999 cité par Gadou, 2019**).
- Au cours de la troisième étape, la plus rapide, les aminosides se fixent sur le ribosome spécifiquement au site A de l'ARN ribosomal 16S qui compose le ribosome bactérien 30S et provoquent la fixation d'un ARN transfert incorrect sur l'ARN messager. La

reconnaissance codon-anticodon est perturbée, ce qui induit la synthèse de protéines erronées (**Touati, 2013 cité par Gadou, 2019**).

6.2.4. Résistance aux aminosides

Le mécanisme le plus répandu de la résistance aux aminosides est l'inactivation enzymatique, ce phénomène est impliqué par l'effet des trois enzymes qui diminuent l'interaction des aminosides avec le ribosome: Les aminosides phosphotransférases (APH), les aminosides nucléotidyltransférases ou O-adénylyl (ANT ou AAD) et les aminosides acétyltransférases (AAC) (**Mangin, 2016**).

Chaque enzyme réagit de manière spécifique soit sur le groupe amine (AAC) ou sur un groupe hydroxyle (ANT et APH) et les produits de ces réactions sont dépourvus d'activité antibactérienne (**Chen et al., 2008 cité par Zalif et Zerkine, 2021**).

6.3. Quinolones

6.3.1. Définition

La découverte de quinolones antibactériennes est mise en pratique grâce à des travaux des chimistes sur la chloroquine, ces composés organiques artificiels sont obtenus par une synthèse entièrement chimique.

L'acide nalidixique représente le premier antibiotique de cette famille, synthétisé en 1962 à partir de 7-chloroquinoline. Ces molécules sont caractérisées par un large spectre d'activité dirigé essentiellement contre les bactéries à Gram négatif, une bonne biodisponibilité orale et une bonne diffusion dans les tissus (**le Minor et Véron, 1989**).

6.3.2. Classification des quinolones

On peut classer les quinolones en 4 grandes générations selon

- La chronologie d'apparition en thérapeutique
- Progrès notables
- Activité antibactérienne
- Elargissement du spectre
- Amélioration pharmacocinétique

Tableau 4 : La classification de la famille des Quinolones (**Ben Youssef, 2015**).

La génération	Antibiotique
1 ère génération	*Acide nalidixique, Acide oxolinique
2ème génération	*Acide pipémidique, Flumériquine
3ème génération	Enorfloxacine, Norfloxacine, Ibafloracine Pardofloxacine, Difloxacine, Danofloxacine Marbofloxacine
4ème génération	Trovafloracin, Moxifloxacine, Sitafloracine Ofloxacine, Lévofloxacine

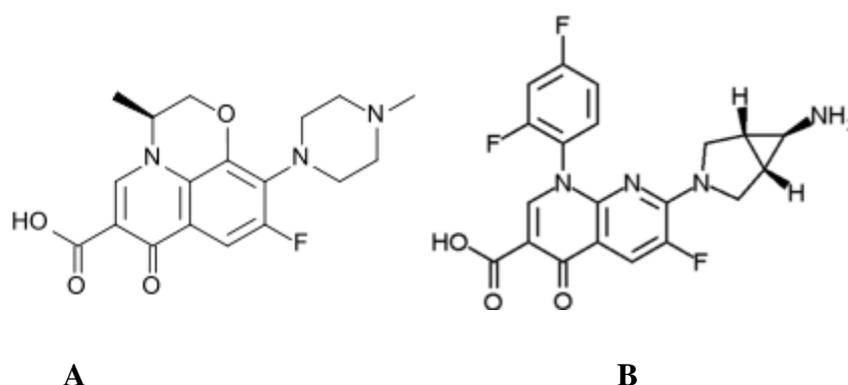


Figure 10 : structure de quelques quinolones (Ball, 2000 cité par Gadou, 2019)

A= Levofalxacine ; **B** = Trovafloracine

6.3.3. Mécanisme d'action des quinolones

Les quinolones ont une action bactéricides agit sur les germes en phase de multiplication (Ben Youssef, 2015) et inhibent essentiellement les topoisomérases de type II et IV de la bactérie ou l'ADN gyrase et alors bloquer leur action durant le déroulement harmonieux de l'ADN qui est nécessaire à sa réplication. (Hooper, 2001 cité par Gadou, 2019).

L'ADN gyrase introduit un super enroulement négatif dans la double hélice d'ADN bactérien. Cette activité est essentiellement pour l'initiation de la réplication de l'ADN ainsi que pour sa

transcription (**Levine et al ., 1998 cité par Amel , 2017**). La topoisomérase IV a une activité de décaténation, qui permet la séparation des chromosomes répliqués à la fin d'une séquence de réplication (**Zechiedrich et al. 1997 cité par Ayad ,2017**).

Les quinolones interagissent avec le complexe ADN-enzyme c'est-à-dire avec l'ADN gyrase liée à ADN bactérien ou avec la topoisomérase IV liée à l'ADN bactérien pour créer des changements de conformation qui aboutissent à l'inhibition de l'activité enzymatique

Le complexe quinolone –enzymes-ADN nouvellement formée bloque la progression de la fourche de réplication ce qui inhibe la synthèse normale de l'ADN et conduit à l'arrêt de la croissance bactérienne (**Hooper ,2001 ; Cambut et Guillard, 2012 cité par Gadou ,2019**).

6.3.4. Résistance aux quinolones

Les bactéries acquièrent une résistance aux quinolones généralement par mutation chromosomique. Ces mutations entraînent soit une modification de la cible, soit une interférence avec le transport de l'antibiotique (**le Minor et Véron, 1989**).

La figure 11 représente le mécanisme de résistance aux Quinolones

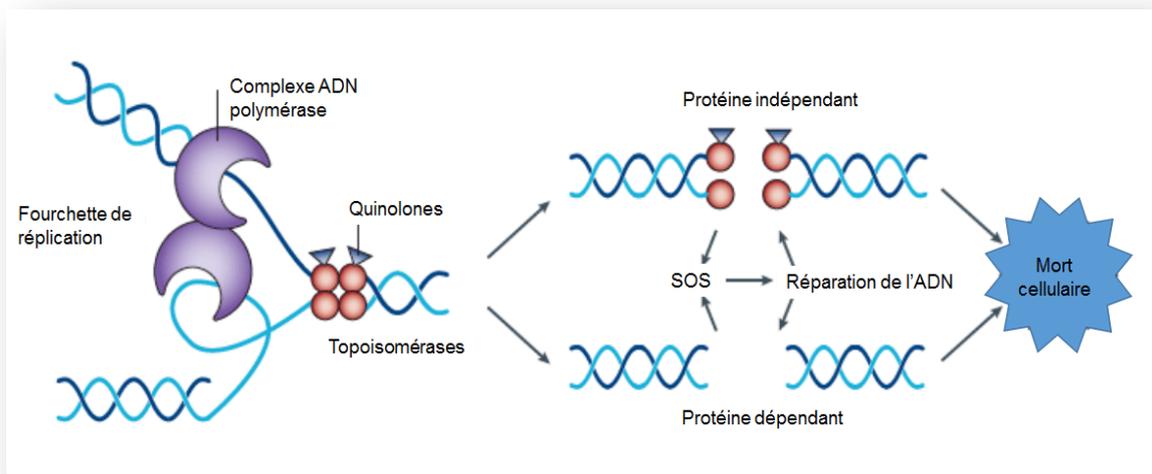


Figure 11 : le mécanisme de résistance aux Quinolones (**Kohanski et al., 2010**)



Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Cadre d'étude

il s'agit d'une étude rétrospective sur sept années et le premier semestre de l'année 2022 durant laquelle nous avons déterminé les infections causées par le genre *Enterobacter*, leurs fréquences et leurs profil de résistances aux antibiotiques. Ces résultats sont obtenus à partir de notre consultation des différents registres et les fiches d'antibiogramme archivés au niveau de l'unité de la bactériologie de laboratoire central de l'hôpital pédiatrique d'El Mansourah, Constantine, du 11 mai 2022 au 19 mai 2022.

D'autre part notre travail pratique s'appuie sur l'isolement et l'identification d'*Enterobacter sp.* selon les méthodes classiques et à l'aide des galeries API 20 E. Les prélèvements étaient effectués au niveau d'Oued à Saleh Darradji, Constantine et la recherche des germes isolés et leur identification a été déroulée au sein du laboratoire de la microbiologie de la faculté S.N.V de l'Université des Frères Mantouri-Constantine 1 pour une période de 23 mai 2022 jusqu'au 7 juin 2022.

1.2. Matériel de prélèvement

- Deux flacons stériles étiquetés
- Les gants stériles
- Sac iso-thermique pour le transport des échantillons
- Marqueur permanent

1.3. Matériel de laboratoire

- Matériel de stérilisation : le bec bunsen
- Matériel d'incubation : Etuve à 37°C
- Divers outils : pipettes Pasteur, anses de platines, bain marie, boîtes de Petri, tubes à essai, pinces, portoirs, vortex, réfrigérateur, lames, microscope optique et les différents produits utilisés comme les colorants, huile d'immersion, eau distillée, eau peptonée, et les divers réactifs.

1.4. Milieux de culture

- Pour l'isolement : la gélose pourpre de bromocrésol (BCP).
- Pour l'identification : le milieu Kilgler -Hajna (KIA), le milieu citrate de Simmons, le milieu mannitol mobilité, le milieu Clark et Lubs.

- Pour l'antibiogramme : la gélose Muller Hinton.

2. Méthodes

2.1. Recueil des données de l'étude rétrospective

Les données sont recueillies à partir des fiches d'antibiogramme et les registres de la bactériologie générale, ECBU et Hémostats de laboratoire de bactériologie. Ces registres et fiches comportent les informations suivantes (le nom, le prénom, le sexe, le service, la date de l'examen, la nature de prélèvement, le résultat de l'étude microbiologique avec l'interprétation de l'antibiogramme).

Les données consultées sont provient des différents services de l'hôpital : service de chirurgie, service de réanimation médicale, service nourrissons et service des maladies contagieuse.

2.2. Prélèvement

2.2.1. Lieu et date de prélèvement

Notre prélèvement a été réalisé au niveau d'Oued à Saleh Darradji – El khroub – Constantine. le 23 mai 2022 à 18 heures et 30 min.

Site de prélèvement



Figure 12 : La localistaion d'Oued Salah Darradji (Google Maps)

2.2.2. Technique de prélèvement

- ✓ Porter des gants stériles.
- ✓ Choisir un endroit précis puis sortir le premier flacon et le plonger de manière horizontale et le remplir jusqu'à la moitié.
- ✓ Laisser une distance de 1 mètre de la lère zone et suivre les mêmes étapes de prélèvement précédent.

2.2.3. Transport des échantillons

Le transport des deux flacons au laboratoire a été réalisé à l'aide d'un sac isothermique pour conserver notre échantillon.

3. Isolement et purification des germes

Pour l'isolement des souches d'*Enterobacter sp.* ont utilisé le milieu BCP qui un milieu sélectif pour l'étude d'entérobactéries par ensemencement en surface.

3.1. Observation macroscopique

La détermination des caractéristiques morphologiques des colonies est le premier examen effectué à partir de l'isolement. Cette observation à l'œil nu permet de faire le

premier diagnostic bactérien avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

Après observation macroscopique des colonies on réalise des purifications par ensemencement sur boîtes contenant de la gélose BCP et incubé à 37°C à 24H.

3.2. Examen microscopique

L'examen microscopique consiste à observer les colonies après une coloration de Gram (annexe 1)

4. Identification biochimique

L'identification biochimique des germes obtenus après la purification est réalisée par l'utilisation des galeries biochimiques classiques (mini galeries) est complétée par la galerie API 20E.

Les caractères d'identification principaux pour les entérobactéries sont la mobilité, la fermentation des sucres, l'utilisation du citrate et l'étude des produits de fermentation du glucose.

Dans notre travail la mini galerie biochimique choisie constituée: le milieu citrate de Simmons, le milieu KIA, le milieu mannitol mobilité et le milieu Clark et Lubs (figure 13)



Figure 13 : la Galerie classique (la mini galerie)

- **Test d'oxydase**

Ce test permet de détecter l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries à Gram négatif et pour se faire ce test on utilise les disques oxydase (OX) de papier absorbant imprégnés de réactif : l'oxalate de N-diméthyle paraphénylène, par l'anse de platine ou pipette pasteur prélever une colonie et la déposer sur la zone réactionnelle de disque et attendre jusqu' à le lire de résultat.

- **Test de catalase**

Ce test est basé sur la recherche d'enzyme qui décompose l'eau oxygénée en eau et en oxygène gazeux.

La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier et mettre en contact avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sur une lame identifiée.

- **Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H_2S sur le milieu KIA**

Le milieu KIA permet d'étudier en 24H l'utilisation de deux sucres essentiels qui sont le lactose et le glucose avec la production ou non de gaz et d' H_2S . Ce milieu de culture est conditionné en tubes avec une pente et un culot.

A partir de la suspension bactérienne préparée on prend un volume précis et étaler la pente avec des stries serrées et le culot par une piqure central après dévisser le bouchon du tube pareillement et incubé a $37^{\circ}C$ à 24H.

- **Etude de la mobilité**

Le milieu mannitol mobilité utilisé pour tester la mobilité des bactéries fermentatives avec la dégradation de mannitol, ce milieu semi solide est conditionné dans un tube et l'ensemencement se fait par une piqure centrale à partir de la suspension bactérienne et à l'aide d'une anse de platine ou pipette pasteur après étuver a $37^{\circ}C$ durant 24H.

- **Utilisation de citrate**

Le citrate de Simmons est un milieu de culture basée sur l'utilisation de citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Ce milieu est présenté en tube incliné et l'ensemencement se fait par la suspension de la culture solide à étudier en stries longitudinale et l'incubation à $37^{\circ}C$ à 24H.

- **Etude de la voie de fermentation du glucose (tests RM et VP)**

L'étude de cette voie se fait au niveau du bouillon de Clark et Lubs, à l'aide d'une pipette pasteur ajoutée quelques gouttes de la suspension bactérienne à analyser puis incubé à 37°C durant 24H.

Après incubation si le résultat est positif on réalise les deux tests RM et VP par le partage de ce milieu en deux et avec l'utilisation des réactifs VP1, VP2 et RM.

- **Galerie miniaturisée API 20 E**

L'identification bactérienne est complétée grâce à une galerie miniaturisée, le choix de cette galerie dépend alors des résultats de l'étude des caractères morphologiques, cultureux et biochimiques qui ont été étudiés précédemment.

Dans notre travail la galerie utilisée est le système API 20 E spécifique pour les entérobactéries non exigeant à Gram négatif. Cette plaque en plastique contient 20 tests biochimiques sous forme du substrat déshydraté conditionné dans des microtubules (Figure14)

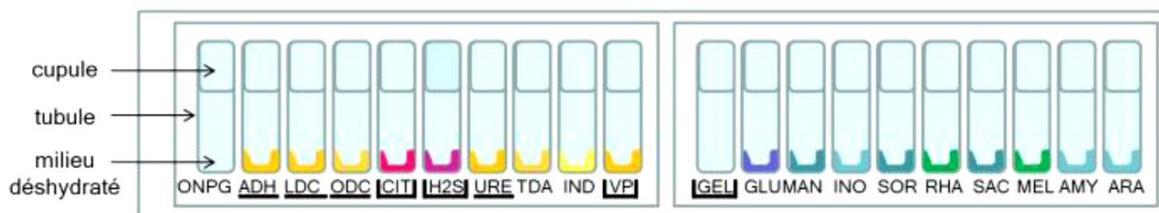


Figure 14 : La galerie miniaturisée

- **Préparation de la galerie**

- ✓ Prendre une seule colonie isolée à partir d'une culture pure et faire une suspension bactérienne dans l'eau peptonée ou distillée stérile (0,5 Mc Farland)
- ✓ Prendre une pipette pasteur et remplir les compartiments avec la suspension bactérienne
- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide puis déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.
- ✓ Incuber le plateau à 37°C pendant 18 à 24H
- ✓ Observer à l'objectif x100 à l'aide de l'huile à immersion
- ✓ Après incubation ajouter les réactifs TDA, Kovacs, VP 1 et VP 2 (annexe 4)

5. Antibiogramme

L'antibiogramme est un test biologique qui permet de mesurer la résistance et tester la sensibilité bactérienne aux antibiotiques in vitro et servent comme un outil à la décision thérapeutique et le choix de traitement au niveau clinique.

L'antibiogramme par diffusion est réalisé selon la technique CLSI en milieu gélosé (solide), c'est une méthode simple et facile et la plus utilisée. Il consiste à placer les disques de papier buvard contenant les antibiotiques à différents concentrations et à l'aide d'un pince stérile sur la surface de la gélose MH qui aura été préalablement ensemencée avec la bactérie étudiée, après laisser diffuser de 15min jusqu' à 20 min sur paillasse suivi par une incubation à 37°C pendant 24h. Après l'incubation on mesure les diamètre critiques de chaque antibiotiques et interprété les résultats obtenus à l'aide de la fiche de CA-SFM (annexe5).



Résultats et discussion

Résultats

1. Résultats de l'étude statistique

1.1. Répartition des données selon les services

Selon l'étude rétrospective, on a remarqué que 37 souches d'*Enterobacter* provenaient de différents services de l'établissement hospitalier SMK-Constantine et même hors hospitaliers. On constate que le service le plus infecté par cette bactérie est le service des nourrissons avec un pourcentage de (38%) suivi du service de réanimation (35%) et puis du service des maladies contagieuses (14%) alors que les fréquences les plus basses des infections causées par *Enterobacter sp.* étaient dans le service de chirurgie (8%) et pour les patients hors hôpital(traitement ambulatoires) avec un pourcentage de (5%)

La figure 15 représente la répartition des patients infectés par *Enterobacter* selon les services.

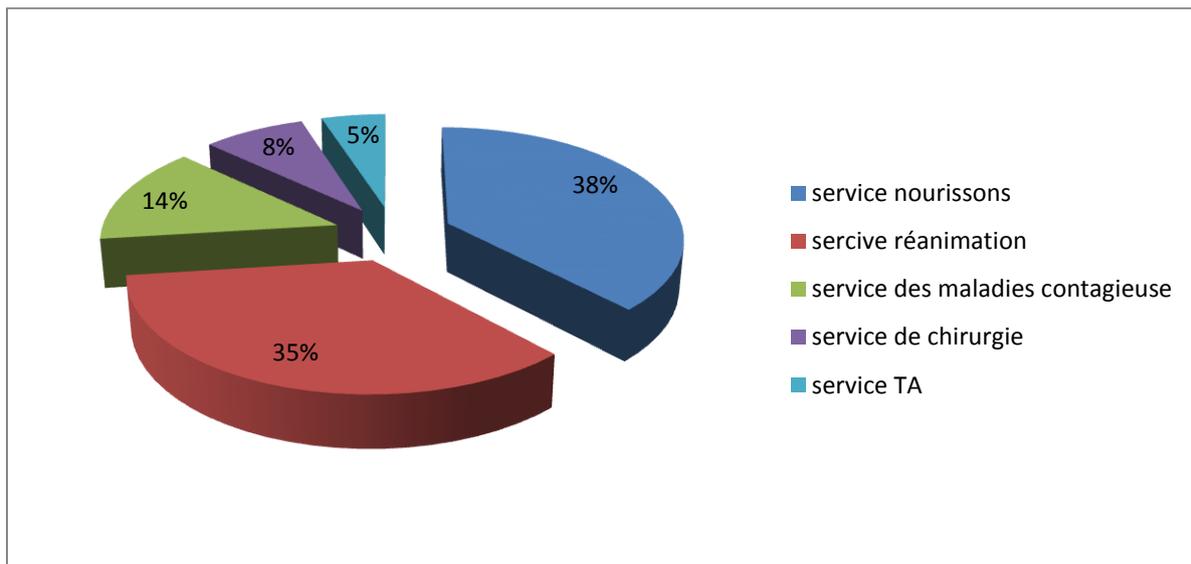


Figure 15: Répartition des patients infectés par *Enterobacter* selon les services

1.2. Répartition des données en fonction du sexe

Parmi les 37 cas d'infections à *Enterobacter* consultées, on trouve la présence d'un résultat proche entre les deux sexes, 19 cas pour les malades féminins qui représentent un pourcentage de (51%) et 18 cas provenaient de la population de sexe masculin avec un pourcentage de (49%).

La figure 16 illustre la répartition des données consultées en fonction du sexe

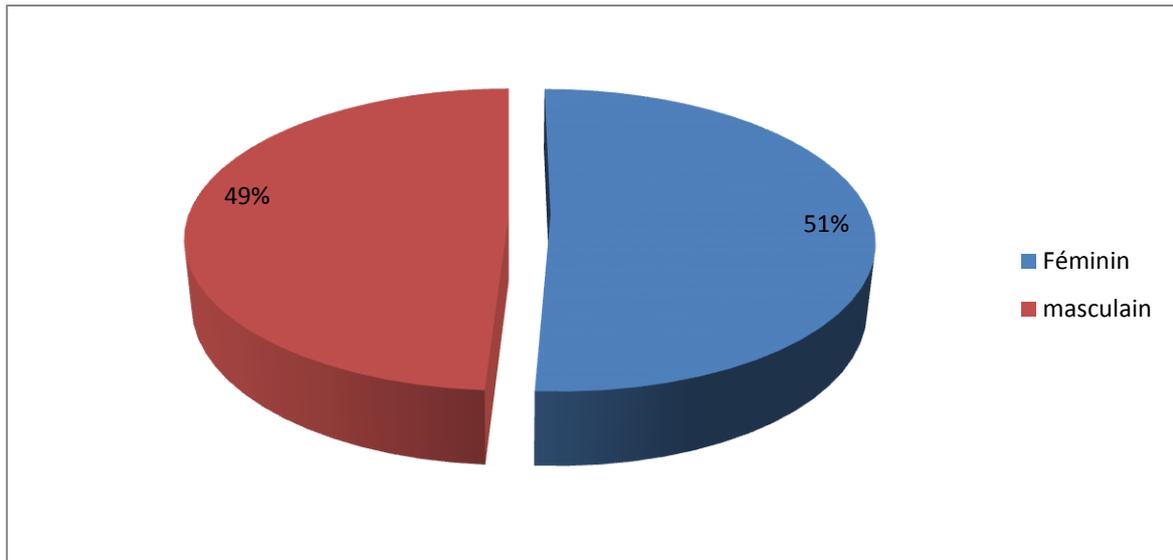


Figure16 : Répartition des données consultées en fonction du sexe

1.3. Répartition des données en fonction de la nature du prélèvement

La majorité de souches d'*Enterobacter sp.* proviennent des hémocultures avec un pourcentage le plus élevée (49%) suivi les urines (22%) alors que les liquides péritonéaux et les cathéters présente un pourcentage similaire de (8%), les pus de différentes origines avec les prélèvements kystiques avec aussi le même pourcentage de (5%) et viennent enfin les sondes (3%) comme le montre la figure 17.

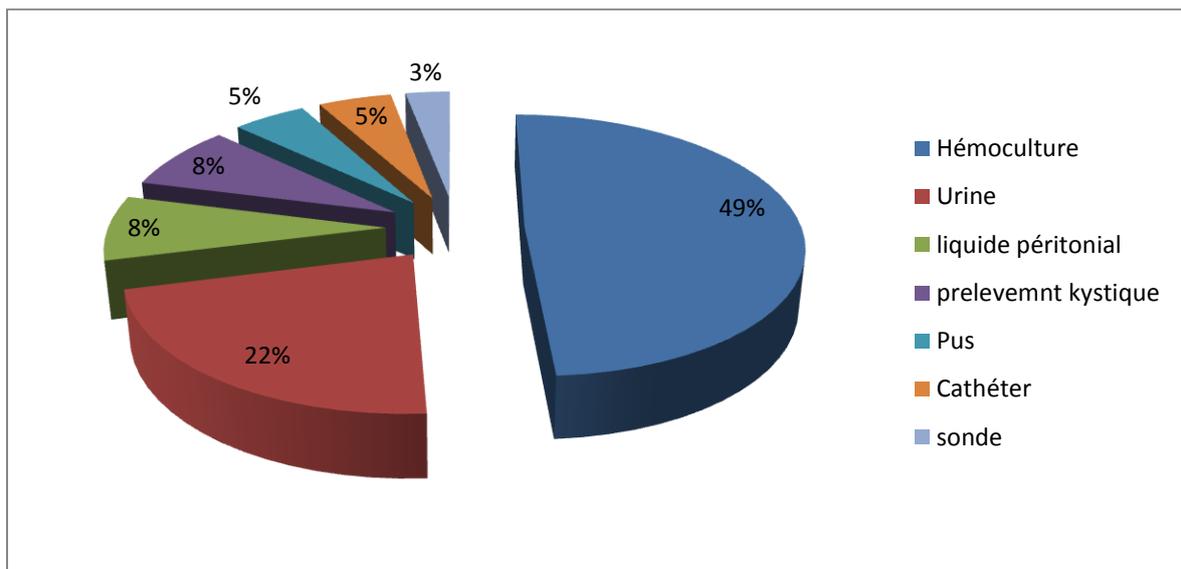


Figure 17: Répartition des données selon la nature du prélèvement

1.4. Profil de résistance d'*Enterobacter* aux antibiotiques

Au cours de l'étude rétrospective un total de 37 souches de *Enterobacter* été démontré parmi ce nombre 26 souches ont été testé vis-à-vis des antibiotiques. Les résultats de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques sont illustrés dans la figure 18 (annexe 9)

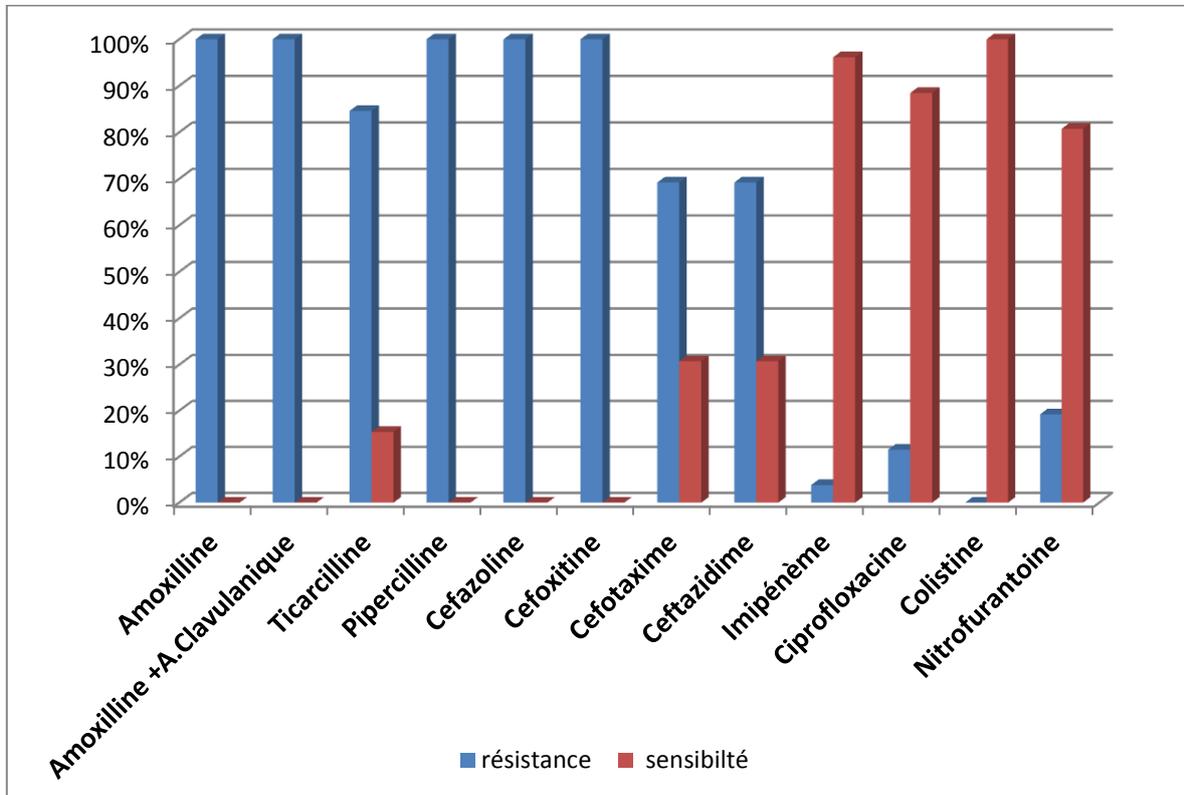


Figure 18 : Sensibilité et de résistance des espèces d'*Enterobacter* sp. aux antibiotiques

D'après la figure 18 on relève :

- ✓ une résistance totale (100%) des souches aux pénicillines (Amoxicilline, Amoxicilline + Acide clavulanique, Piperacilline, Céfazoline et Céphoxitime).
- ✓ Concernant l'imipénème la majorité des souches sont sensibles avec un pourcentage de 96,15%
- ✓ Pour les aminosides (Amikacine) on remarque une inhibition totale des souches (avec 100% de sensibilité)
- ✓ Par ailleurs, les colistines ont une excellente activité sur les souches (avec 100% de sensibilité)
- ✓ Cependant les antibiotiques suivants Ciprofloxacine et Nitrofurantoïne ont une sensibilité de 88,46% et 80,76% respectivement.

2. Résultats de la partie pratique

2.1. Aspect culturaux

2.1.1. Examen macroscopique

- **Avant purification**

Après incubation des boîtes à 37°C durant 24H sur milieux BCP, plusieurs colonies de taille et diamètres variables sont poussé, présentant des couleurs différentes (jaune, violet et blanchâtre) et de divers aspects (muqueuse, bombée et certaines avec un centre blanc).

La figure 19 montre l'aspect, forme et taille des colonies sur la gélose BCP

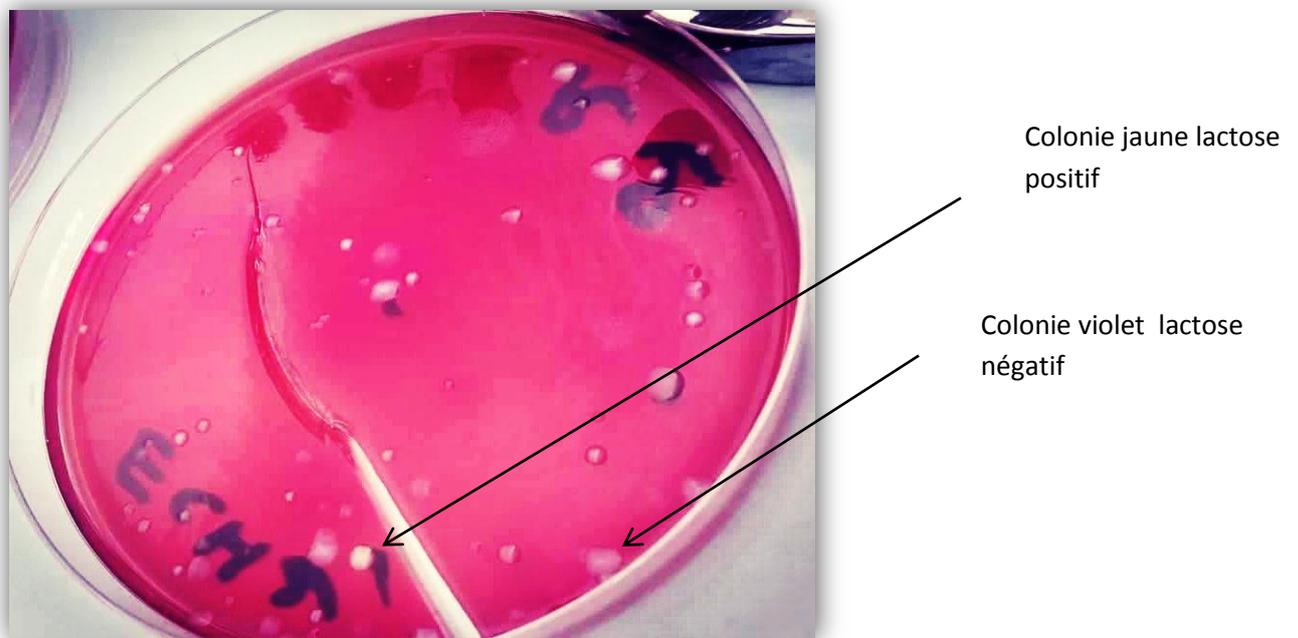


Figure 19 : Aspect, forme et taille des colonies sur la gélose BCP

- **Après purification**

La figure 20 représente Aspect des colonies après purification sur milieu BCP



Figure 20: Aspect des colonies après purification sur milieu BCP

2.1.2. Examen microscopique

L'examen microscopique de la coloration de Gram nous a permis d'observer la présence de coco-bacilles de couleurs rose, ce qui indique que ce sont des bactéries à Gram négatif, comme représenté dans la figure 21.

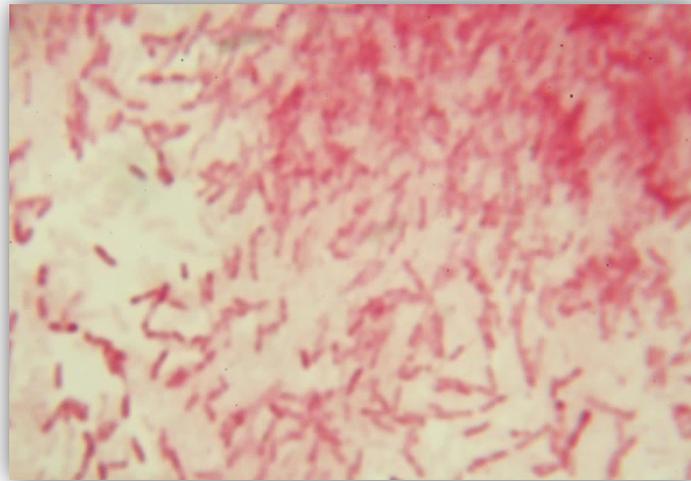


Figure 21: Aspect des coco-bacilles à Gram négatif sous le microscope (x100)

2.1.3. La galerie classique

- **Test oxydase**

Sur les six souches testées, deux souches sont oxydase négative et les quatre autres sont oxydase positive. La présence de cette enzyme se manifeste par l'apparition d'une coloration violette sur le disque d'oxydase et l'absence de coloration dans le cas contraire.

La figure 22 montre un disque d'oxydase de résultat positif



Figure 22: Disque d'oxydase représente un résultat positif

• **Test de la catalase**

Toutes les souches testées ont une catalase positive (+). Ce test est jugé comme étant positif et observable si des bulles d'air apparaissent lorsque la bactérie est exposée au peroxyde d'hydrogène comme représenté dans la figure 23.

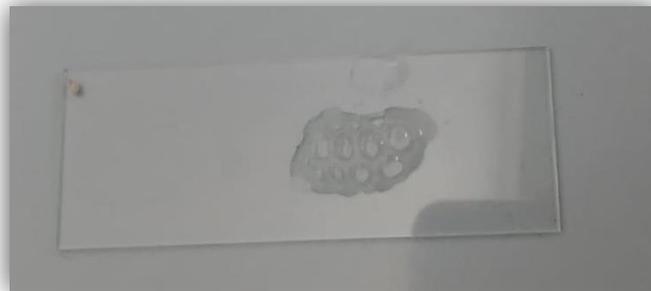


Figure 23 : Résultat positif du test catalase

• **Mannitol mobilité**

L'utilisation du mannitol par les germes étudiées est indiquée par l'apparition de la couleur jaune causé par le virage de l'indicateur coloré rouge de phénol du rouge au jaune et donc ces bactéries sont dites mannitol positif(+).

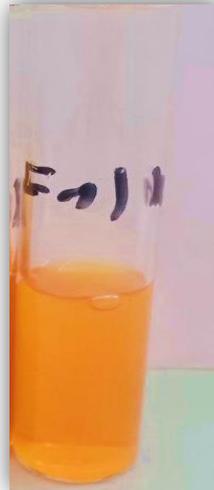
Pour certaines souches le milieu mannitol mobilité reste colorée en rouge : pas de virage de couleur, donc la bactérie n'utilise pas le mannitol est dite mannitol négatif(-).

La mobilité des bactéries est témoignée par la présence des voiles autour la piqure centrale et la turbidité de milieu.

La figure 24 illustre l'aspect des colonies sur milieu Mannitol-Mobilité



Mannitol négatif (-)



Mannitol positif (+)

Figure 24: Aspect des colonnies sur milieu Mannitol-Mobilité

- **Citrate de Simmons**

L'utilisation de citrate par les bactéries est traduite comme suit :

- ✓ Couleur bleue : c'est à dire la bactérie utilise le citrate de Simmons comme seule source de carbone, le milieu devient alcalin qui fait varier le bleu de bromothymol (indicateur de pH) du vert au bleu.
- ✓ Couleur verte : dans ce cas-là la bactérie ne donne ni culture ni bleuissement donc le milieu reste vert et les bactéries sont dites citrate négatif.

La figure 25, elle montre l'aspect des colonies milieu Citrate de Simmons



Citrate négatif(-)



Citrate positif (+)

Figure 25: Aspect des colonies sur milieu citrate de Simmons

• Le milieu KIA

La réalisation des cultures sur milieu KIA nous a donné des souches bactériennes avec différents caractères au niveau de l'utilisation des sucres.

- ✓ Une pente rouge : bactérie ne fermente pas le lactose (lactose négatif)
- ✓ Une pente jaune : bactérie fermentant tous les sucres
- ✓ Culot jaune : bactéries à glucose positif
- ✓ la production des gaz lors de l'utilisation des glucides est mise en évidence par le décollement de la gélose ou l'apparition des bulles dans la gélose, comme le montre la figure 26.



Figure 26 : Aspect des colonies sur milieu KIA

• Milieu Clark et Lubs

Notre résultat test du test RM donne différentes couleurs des milieux certain sont :

- ✓ Des milieux rouges : ce résultat s'explique par la production des acides forts par les bactéries au cours de la fermentation . Le milieu reste acide et donc en rouge
- ✓ Des milieux jaunes : les bactéries produisent des acides faibles le milieu c'est acidifié, puis ré alcalinisé. Le milieu est donc jaune

Les résultats du test de VP pour certaines colonies est comme suit :

- ✓ Apparition d'une couleur rouge : c'est-à-dire VP positif
- ✓ Milieu reste incolore : c'est à dire VP négatif

2.1.4. Galerie API 20E

La galerie API 20 E nous a permis de compléter l'identification biochimique des souches étudiée .sur les six souches testées, 2 souches correspondent à *Enterobacter sp.* comme le montre les tableaux 5 ,6 et les figures 27,28 respectivement.

✚ Souche 1 :E₂/R₂j

Tableau 5 : Résultats de la galerie API 20 E de la souche E₂/R₂ J

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H₂S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultats	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+

A partir de catalogue analytique, cette souche correspond à *Enterobacter cloacae*



Figure 27: Galerie API20E de la souche *Enterobacter cloacae*

✚ Souche 2 : E₂/A₁

Tableau 6 : Résultat de la galerie API 20 E de la souche E₂/A₁

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultats	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir de catalogue analytique, cette souche correspond à *Enterobacter Sakazakii*



Figure 28: Galerie API 20E de la souche *Enterobacter sakazakii*

2.1.5. Antibiogramme

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton selon le CLSI et les diamètres d’inhibition autour des disques sont mesurés à l’aide d’une règle, puis ils sont comparés aux diamètres critiques présentés en l’annexe 6

Il convient de noter toutefois sur une fiche de résultat d’antibiogramme qu’une souche dont la sensibilité aux antibiotiques est ainsi évaluée peut être déclarée " sensible (S), résistante (R), (I) intermédiaire.

Les résultats de l’antibiorésistance des deux souches d’*Enterobacter sp.* isolées sont illustrés dans le tableau 7 et annexe 5.

Tableau 7 : les résultats de l'antibiogramme des souches d'*Enterobacter sp.*

Antibiotiques	Souche 1	Souche 2
Amoxicilline	R	R
Amoxicilline + AC. Clavulanique	R	R
Ticarcilline	R	R
Ticarcilline + AC. Clavulanique	R	R
Cefoxitine	R	R
Imipenème	S	S
Pipracilline	S	S
Furantoïne	S	S
Gentamicine	S	S
Pefloxacine	S	S
Chloramphynicole	S	S
Thrematoprime	S	S
Tobramycine	S	S
Isepamicine	S	S
Norofloxacine	-	S

R : Résistante S : Sensible (-) : pas utilisé

Discussion

1. Discussion des résultats statistiques

Les résultats de notre étude montrent que les souches hospitalières sont prédominantes dans les services et sont réparties comme suit : le service nourrisson représente le pourcentage le plus élevé de souches (38%) suivi par le service réanimation (35%) puis le service des maladies contagieuses (14%), le service de chirurgie avec un pourcentage de 8%, cependant une minorité de 5% a été observée chez les consultants de traitements ambulatoires (TA) par contre l'étude faite à l'hôpital de Tlemcen, Sidi Bell Abbas et Oran a démontré que le genre *Enterobacter sp.* a été retrouvé dans tous les services des trois hôpitaux avec une prédominance des souches isolées dans les unités de soins intensifs avec un taux de 35.2%, des souches d'*Enterobacter sp.* ont été isolées au niveau de la réanimation du CHU de Sidi Bell Abbas (70.6%) au niveau de la réanimation de Tlemcen et 35.8%, 18.8% et 17% dans les trois services de réanimation médicale, urgence médico-chirurgicales et infantile d'Oran respectivement (**Boudjemaa, 2015**).

Les données statistiques de notre travail, montrent que les patients de sexe masculin et féminin présentent des fréquences proches et similaires de 49% et 51% respectivement, ce qui concourt les résultats obtenus par Zalif et Zerkine qui ont trouvées que les fréquences des deux sexes présentent une égalité de 50% (**Zalif et Zerkine, 2021**).

Les résultats statistiques des types de prélèvement montrent que les hémocultures sont les plus dominantes avec un pourcentage de 49%, suivi par les prélèvements urinaires avec 22%, le liquide péritonéal et les prélèvements cystiques présentent une égalité de 8% et les prélèvements de pus et de cathétraires avec un pourcentage de 5% et enfin les sondes présentent un pourcentage de 3%. Ces résultats obtenues ne concourent pas avec les résultats rapportées par Khannouchi qui a trouvé qu'à l'est algérien 71% des souches ont été isolées à partir des urines et 29% à partir de pus, alors qu'à Marseille en France, les souches ont été isolées à partir de pus et des urines avec une même fréquence de 50% (**khannouchi, 2016 cité par Zalif et Zerkine, 2021**).

Par contre les résultats de Zalif et Zerkine au niveau de l'hôpital El Bire – Constantine montre que *Enterobacter cloacae* présente dans deux prélèvements (urinaire et pus) avec une fréquence de 33% et 67% respectivement (**Zalif et Zerkine, 2021**).

les résultats de l'étude de la résistance des espèces d'*Enterobacter* aux antibiotiques présente une résistance naturelle aux β -lactamines (AMX,AMC,PI,CTX,CZ) et une sensibilité totale aux les aminosides (Amikacine) et à l'Imipenème .Ces résultats sont conformes avec ceux de l'étude faites en 2021 par Zalif et Zerkine qui trouvent que les souches d'*Enterobacter* isolées présents à 100% une résistance naturelle vis- à- vis à l'Ampicilline et l'Amoxilline et à l'association de l'Amoxilline avec l'Acide Clavulanique à l'exception de l'Imipenème qui reste active sur les souches (**Zalif et Zerkine,2021**).

Selon les travaux réalisés à la faculté de Médecine par Pierre et Marie curie en 2002, les souches d'*Enterobacter Cloaceae* sont naturellement résistantes à l'Amoxilline par production d'une β -lactamase chromosomique (**Djouhaer,2013 cité par Boudjemaa, 2015**) et les résultats e l'étude de Boudjemaa confirme que l'Amikacine reste l'antibiotique le plus actif sur les souches d'*Enterobacter cloaceae* avec une sensibilité totale (**Boudjemaa, 2015**).

Concernant les quinolones, notre étude a révélé un taux de résistance de 11 ,54% pour la Ciproflaxine, ce résultat est conforme à l'étude de Bouzeraa et Berrihil en 2018 qui trouvent un pourcentage de 20%. Aussi l'étude faite par Boutarfi en 2021 qui confirme que l'activité de cet antibiotique sur les souches d'*Enterobacter sp.* est de 20,78%.

La Colistine présente un taux de sensibilité de 100%, ce qui est confirmé par l'étude de Bouzeraa et Berrihil en 2018 qui trouve que cet antibiotique présente une excellente activité sur les souches avec un taux de 100% de sensibilité.

Pour la Nitrofurantoinne qui fait partie de la famille de furanes, nos souches présentent un taux de sensibilité de 80,76% ce qui est conforme avec les études de Brahim en 2013 avec un pourcentage de 80%, par contre les études faites par Esskouri en 2011, la sensibilité est de 56,79%, ce qui est en désaccord avec nos résultats.

2. Discussion des résultats de la partie pratique

2.1. Isolement et identification

Les isolements ont été réalisés sur le milieu BCP qui est un milieu spécifique pour la croissance des entérobactéries. Ce dernier nous a permis de sélectionner des colonies bien déterminées et isolées pour faire une identification biochimique qui joue un rôle fondamentale pour la classification et la caractérisation des germe isolées.

La coloration de Gram révèle que ces entérobactéries sont des cocobacilles et l'identification biochimiques nous ont guidé pour caractériser les colonies testées comme suit : Oxydase (+), catalase (+), Nitrate réductase (+).

Le milieu KIA montre que ces souches sont des entérobactéries fermentatives avec quelques différenciations au niveau des sucres utilisés où la majorité de ces colonies peuvent fermenter les deux sucres de ce milieu (glucose et lactose) avec la production de gaz et certains utilisent le glucose seulement. Les souches isolées sont mannitol et mobilité positifs et capables de métaboliser le citrate.

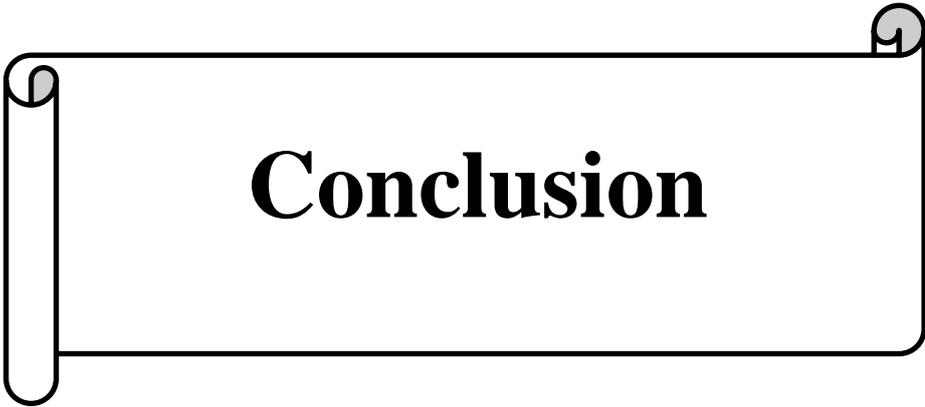
Par la suite, ces caractéristiques biochimiques nous ont amené à compléter l'identification à l'aide des galeries API 20E spécifiques pour les entérobactéries fermentatives à Gram négatif non exigeantes. L'ensemble des résultats obtenus ont permis d'orienter le diagnostic vers le genre *Enterobacter*.

2.2. Antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme ont fait ressortir l'émergence des deux souches résistantes à la majorité des antibiotiques testés, principalement aux β -lactamines (Amoxicilline + Acide clavulanique, Ticarcilline, Pipracilline, Céfoxitine, Céfotaxime) qui présentent une résistance naturelle, à l'exception de l'Imipénème et l'Amikacine.

Pour les aminosides, la Gentamicine, la Kanamycine et la Tobramycine, ont présenté une excellente activité sur les deux souches testées et une activité faible à l'opposé de celle noté vis-à-vis du Triméthoprime.

En fin, on peut dire que les résultats de notre étude pratiques montrent une haute similarité à ceux de l'étude rétrospective où les souches d'*Enterobater sp.* isolées dans l'environnement ou au niveau clinique ont présenté le même profil de résistance aux antibiotiques.



Conclusion

Conclusion

Enterobacter est un germe pathogène opportuniste considéré comme le chef de file des germes responsables d'infections hospitalières. Ce germe est classé dans la famille des Enterobacteriaceae qui sont des anaérobies facultatives, ceci justifiant leur présence dans l'environnement.

La plus part des espèces associées aux infections à *Enterobacter sp.* sont naturellement résistantes aux antibiotiques anciens et ils sont également capables de développer une résistance aux nouveaux antibiotiques.

Dans notre recherche nous avons effectué une étude rétrospective sur sept années et le premier semestre de l'année 2022, cette étude donne principalement une idée sur la résistance de ce germe aux antibiotiques à partir des fiches d'antibiogramme et leurs présences dans différents prélèvements et de divers services, suivie par une partie pratique réalisée au niveau du laboratoire de la microbiologie de l'université Constantine 1 basée principalement sur l'isolement et l'identification d'*Enterobacter sp.* à partir d'échantillons environnementaux précisément d'eau d'Oued Salah Darradji El-Khroub.

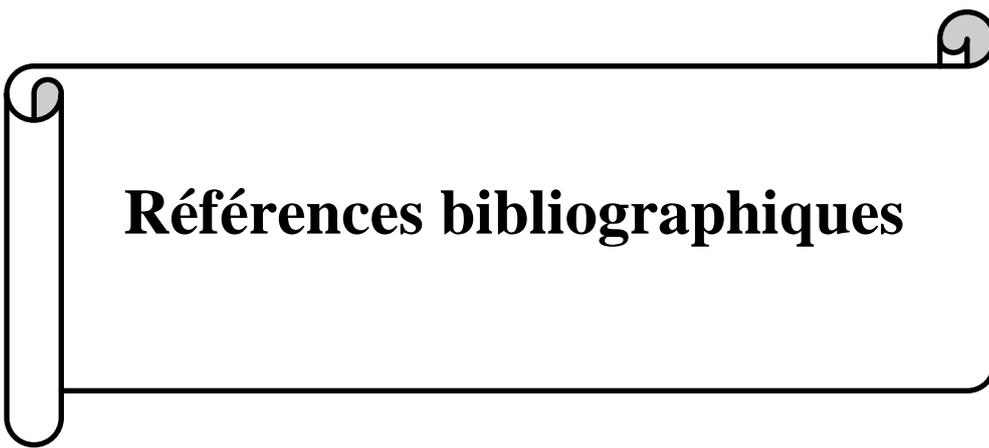
Certains antibiotiques de la famille des pénicillines (Amoxilline, Amoxilline +Acide Clavulanique) ont perdu leur place à cause d'une résistance naturelle d'*Enterobacter sp.* Par ailleurs l'Imipenème, la Colistine et les Aminosides restent les molécules à excellente activité sur cette bactérie.

Les résultats obtenus après l'étude pratique et à partir de la galerie API 20E ont montré les caractéristiques biochimiques suivants de deux souches isolées: oxydase(-), catalase(+), H₂S(-), VP(+), RM(-), Citrate de Simmons (+), IND (-), Lac (+), Uréase (-). Aussi L'antibiogramme réalisé sur les deux souches identifiées *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter sakazakii* montre la présence des phénotypes de la résistance naturelle à la famille des β -lactamines (AMX, AMX+AC, TIC TCC et AMC).

Les résultats préliminaires obtenus dans cette étude nous permettent de penser aux perspectives suivantes :

- ✓ Réaliser un grand nombre d'échantillons de l'environnement.
- ✓ Réaliser une étude moléculaire variée.

- ✓ La lutte contre la transmission de cette bactérie par le développement des stratégies d'isolement spécifiques et les mesures d'hygiène destinées à diminuer ce réservoir de contamination et protéger les autres malades.
- ✓ L'utilisation correcte des antibiotiques joue un rôle crucial pour appliquer un traitement efficace et réduit les problèmes de la résistance.



Références bibliographiques

- Abbas, Ch., Bouazza, A. (2020). Résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif. Mémoire de Master : Microbiologie appliqué .Bouira : Université Akli Mohand Oulhadj, 90p. Disponible sur <http://dspace.univbouira.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/9538/1/R%C3%A9sistance%20aux%20antibiotiques%20chez%20les%20bacilles%20%C3%A0%20Gram%20n%C3%A9gatif.pdf>
- Abdelmalek, A., Lezzar, A., (2016). Les bactéries du groupe Klebsiella, Enterobacter, Serratia responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. Mémoire de Master : Ecologie Microbienne .Constantine : Université des Frère Mantouri, 87p. Disponible sur <http://fac.unc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2018/Les%20bact%C3%A9ries%20du%20groupe%20Klebsiella,%20Enterobacter,%20Serratia%20responsables%20des%20bact%C3%A9ri%C3%A9mies%20au%20CHU%20de%20Constantine%20et%20leurs%20profils%20de%20r%C3%A9sistances%20aux%20antibiotiques..pdf>
- Aggoun, L. (2012) .Activité antibactérienne et inhibitrice de β -lactamases des huiles essentielles des graines de Nigella sativa L. Mémoire de Master : Biochimie .Sétif : Université Ferhat Abbas, 126P .Disponible sur : <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/2142>
- Ajdakar. (2015). Les entérobactéries productrices de bétalactamases à spectre élargi (BLSE) : Profil épidémiologique actuel et conséquences thérapeutique. Thèse de Doctorat : Médecine. Marrakech : Université Cadi Ayyad, 104p. Disponible sur http://bib.univoeb.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/10795/1/memoire%20blse1_2.pdf
- Anju, V.T., Siddardha, B., Dyavaiah, M. (2020). Enterobacter infections and antimicrobial Drug Resistance. (consulté le 22 /03/2022) https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-1695-5_11
- Aquaportail .Entérobactérie (en ligne) (page consulté le 27 /04/2022). <https://www.aquaportail.com/definition-2473-enterobacterie.html>
- Ayad, A. (2017). Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez Escherichia coli au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. Thèse de doctorat : Microbiologie. Tlemcen : Université Abou Beker Belkaid, 174P. Disponible sur <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/10244/1/AYAD.pdf>

- Ben Youssef .Quinolones et Fluoroquinolones[en ligne] (page consulté le 10/05/2020).Disponible sur :
<https://pharmatox.wordpress.com/pharmacie-speciale/antibacteriens/quinolones-et-fluoroquinolones/>
- Berrihil, H .Bouzeraa, A. (2018).Bactériologie des entérobactéries isolées au niveau du service de réanimation de l’hôpital militaire régional universitaire de Constantine. Mémoire de master : Microbiologie et hygiène hospitalière. Constantine : Université Frères Mantouri Constantine 188p.
- Bêta-lactamase. Mécanisme d'hydrolyse de la pénicilline par la β -lactamase (sans date). [photo] In : Wikipédia. Disponible sur :
<https://fr.wikipedia.org/wiki/B%C3%AAta-lactamase> (consultée le 04/05/2022)
- Boudjema, D. (2015).Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Enterobacter cloacae .Thèse de Doctorat : Microbiologie. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid, 161P.
<http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/8470/1/BOUDJEMAA-Djahida.pdf>
- Boulahlib, N., Gherraz, CH. (2020).Recherche des souches d’Escherichia coli productrice de BLSE d’origine alimentaire .Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée .Oum Bouaghi : Université Larbi Ben M’Hidi ,40 p. Disponible sur :
<http://hdl.handle.net/123456789/9601>
- Bousseboua, H. (2005).Eléments de Microbiologie. Constantine, Algérie : Campus-club .304p.
- Boussena (2019).Manuel des travaux pratiques de Bactériologie. Disponible sur
https://fac.umc.edu.dz/vet/Cours_Ligne/Cours/TP_Bacteriologie.pdf
- Brahim, L. (2013).Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées d’infections urinaires. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 132p.Disponible sur
<http://ao.um5s.ac.ma/jspui/handle/123456789/1118>
- Carip. C, Dorsainvil, E., Salavert, M-H. et al. (2008).Microbiologie hygiène : Bases microbiologique de la diététique. Lavoisier, Paris : TEC & DOC, p257.
- Coudeyras, Sophie., Forestier, Christiane. La localisation préférentielle des entérobactéries au niveau du tube digestif (2010) [photo]In: Canadian Journal of Microbiology. Disponible sur

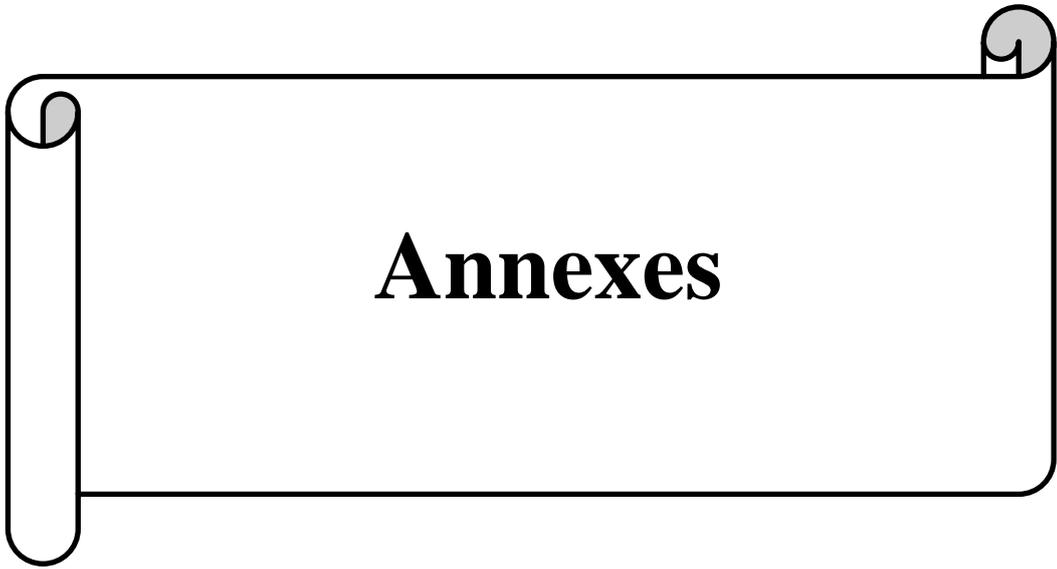
<https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fcdnsiencepub.com%2Fcms%2F10.1139%2FW10-052%2Fasset%2Fimages%2Flarge%2Fw10-052f2.jpeg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fcdnsiencepub.com%2Fdoi%2F10.1139%2FW10-052&tbid=6B6ZIFNBVxF02M&vet=12ahUKEwjRyc69z7v4AhWmxoUKHdbJD6oQMygtegUIARD4AQ..i&docid=fOFpo7NNzkDBTM&w=1299&h=1364&q=la%20ocalisation%20des%20enterobacteries%20au%20niveau%20de%20syst%C3%A8me%20digestif&ved=2ahUKEwjRyc69z7v4AhWmxoUKHdbJD6oQMygtegUIARD4AQ> (consultée le 01/04/2022)

- Courvalin, P., Leclercq, R., et Bingen, E. (2006). Antibiogramme. Paris : ESKA. 693 p.
- Clatworthy, A. Chronologie des mises sur le marché de nouveaux antibiotiques et d'apparition des premières résistances microbiennes(2007)[photo] In : ResearchGate. Disponible sur https://www.researchgate.net/figure/Chronologie-des-mises-sur-le-marche-de-nouveaux-antibiotiques-et-dapparition-des_fig5_332696623 (consulté le 10/04/2022).
- Davin-Regli, A., Lavigne, J.-P., et Pagès, J.-M. (2019). Enterobacter spp. : Update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. ASM Journals, Clinical Microbiology Reviews (en ligne) 32(4) (consultée le 22/03/2022) <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00002-19>
- Delarras, C (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou control sanitaire. Lavoisier, Paris : TEC& DOC, 476P.
- Douhan, H (2021). Les infections à Entérobactéries, épidémiologie et diagnostic bactériologique. Thèse de doctorat : pharmacie .Rabat : Université Mohammed V-Rabat ,143 P. Disponible sur <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/19034/P0812021.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Esskouri, Z. (2001). Sensibilité des entérobactéries urinaires a la Fosfomycine et a la Nitrofurantoïne a l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Thèse de doctorat : pharmacie. Rabat : Université Mohammed V-Rabat, 151. Disponible sur <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/1893>
- François Denis, Marie-Cécile Poly, Christian Martin, Edouard Bingen et Roland Quentin. Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae (sans date)

- [photo]In : François Denis, Marie-Cécile Poly, Christian Martin, Edouard Bigngen et Roland Quentin. Bactériologie Médicale. Paris : Elsevier Masson, 2007, 640p.
- Gadou, V. (2019).Epidémiologie moléculaire des Entérobactéries productrices de β -lactamses a spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan. Cote d'ivoire. Thèse de Doctorat : Biologie fonctionnelle et Moléculaire. Abidjan. Cote d'ivoire : Université Félix Houphouët biogny, 218p. Disponible sur <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02417084/document>
 - Gouvernement du Canada. Fiche technique Santé-Sécurité : Agents pathogènes-Enterobacter spp. [en ligne](page consultée le 20/05/2022) <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/enterobacter.html>
 - Grimont,F.,Grimont, P-A-D.(2006) .The Genus Enterobacter.in : Procaryotes.Springer , New York, p 197-214 .Disponible sur https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/0-387-30746-X_9?noAccess=true
 - Joshua, T., Thaden, J-M, Pogue et Keith, S-K. (2016) .Role of newer and re-emerging older agents in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae .NCBI (en ligne) (page consulté le 09/05/2022). Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5477716/>
 - Kohanski, MA., Dwyer, D-J et Collins, J-J. Mécanisme d'action des quinolones(2010). [Photo] In : Nature reviews microbiology. Disponibles sur : <https://www.nature.com/articles/nrmicro2333> (page consulté le 10 /06 /2022).
 - Laafifi, A., Bahi, k., (2021).Entérobactéries β -lactamase à spectre étendu EBLSE : mécanisme de résistance aux antibiotique et méthodes de détection au laboratoire. Mémoire de Master : Microbiologie Appliquer .Oum Bouaghi : Université de Université Larbi Ben M'Hidi ,52p.Disponible sur http://bib.univoeb.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/10795/1/memoire%20blse1_2.pdf
 - Laboratruimdiscounter. Mannitol[en ligne] (page consultée le 28/05/2022) <https://www.laboratoriumdiscounter.nl/fr/produits-chimiques/a-z/m/mannitol/>

- Le Minor, L. et Veron, M. (1989). Bactériologie médicale. Paris. Edition Flammarion Médecine-Sciences. p.312-459.
- Makhlof. (2019) .les β -Lactamines .Disponible sur :
http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharm3an_pharmaco23-betalactamines_makhlof.pdf
- Mangin, L. (2016) .Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Lorraine : Université de Lorraine, 125p.Disponible sur
<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01734015/document>
- MemeBio .Réaction de Voges-Proskauer (en ligne) (page consultée le 01/05/2022).
http://www.memobio.fr/html/bact/ba_te_rvp.html#:~:text=Elle%20permet%20de%20mettre%20en,incube%20%C3%A0%2037%C2%B0C.
- Mezaini, M., (2012).Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas .Mémoire de Magistère : Biochimie. Constantine : Université Mantouri Constantine. Disponible sur
<https://www.bibliosante.ml/bitstream/handle/123456789/4658/21P53.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Microbes edu .Les entérobactéries.
<http://www.microbes-edu.org/etudiant/entero.html> (consultée le 19/05/2022)
- Ministère de la santé et de la prévention. L'antibiorésistance : pourquoi est-ce grave ?
<https://solidarites-sante.gouv.fr/prevention-en-sante/les-antibiotiques-des-medicaments-essentiels-a-preserver/des-antibiotiques-a-l-antibioresistance/article/l-antibioresistance-pourquoi-est-ce-si-grave#:~:text=Les%20premi%C3%A8res%20r%C3%A9sistances%20%C3%A0%201a,surgissent%20dans%20les%20ann%C3%A9es%202000.>
- Mokrani, S. (2010).La ruminococcine A et son rôle antibactérien à l'égard de souches multirésistantes isolées des hôpitaux de la région de Bejaia. Mémoire de Magister : Microbiologie appliquée. Béjaia : Université Abderrahmane Mira ,152P. Disponible sur
<https://www.univ-bejaia.dz/xmlui/bitstream/handle/123456789/10481/La%20Ruminococcine%20A%20et%20son%20r%C3%B4le%20antibact%C3%A9rien.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Muylaert, A., Mainil, J.G., (2012) .Résistance aux antibiotiques : les mécanismes et leurs « contagiosité ».Annales de médecine vétérinaire[en ligne] ,156 (Page consulté le 29/4/2022).
Disponible sur :
<https://orbi.uliege.be/handle/2268/168957>
- Nazir, F., Ibrahim, M., Ghunva, Z., Annam, H., Muhammed, A et (2018).Diversité génétique et analyse fonctionnelle des facteurs Sigma dans *Enterobacter cloacae* provenant de divers niches. PubMed [en ligne] (page consultée le 18/05/2022)
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29472760/>
- Prescott, L-M., Harley, J-P. et Klein, D-A. (2003).Microbiologie. Bruxelles :De Boeck,1125P.
- Pimido. Les entérobactéries (en ligne) (page consultée le 27 /04 /2022).
<https://www.pimido.com/matieres-scientifiques-et-technologiques/biologie/etude-de-cas/enterobacteries-526813.html>
- Saadaoui, M. (2008).La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassaï de Settat. Thèse de de Doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 121p.Disponible sur :
<http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/14715>
- Toumi, A. (2008).Les aminosides.
https://www.infectiologie.org.tn/pdf_ppt_docs/cmi/college_monastir/aminosides.pdf
- Yala, D., Merad, A-S., Mohammedi, D. et Ouar Krochi, M-N. (2001) .Classification et Mode d'action des antibiotiques .Médecine du Maghreb (en ligne), (91) (page consulté le 15 /05 /2022).Disponible sur :
http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie_bio2/atb.pdf
- Zalif, B-N ., Zerkine, N-L. (2021). Etude de la résistance aux antibiotique des souches d'*Enterobacter cloacae* isolées au niveau de l'établissement public hospitalier El bir Constantine .Mémoire de Master : Biologie moléculaire des microorganismes .Constantine : Université des Frères Mantouri Constantine 1 ,67 p. Disponible sur
<https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2021/Etude%20de%20la%20r%C3%A9sistance%20aux%20antibiotiques%20des%20souches%20d%E2%80%99Enterobacter%20cloacae%20isol%C3%A9es%20au%20niveau%20de%20l%E2%80%99C3%A9tablissement%20public%20hospitalier%20El%20bir%20Constantine.pdf>



Annexes

Annexe 1 : la coloration de Gram

- **La technique de la coloration**

Les étapes de coloration est comme suite :

- ✓ Préparer et fixer un frottis bactérien à la chaleur du bec Bunsen
- ✓ Recouvrir au violet de Gentiane pendant 1min
- ✓ Eliminer l'excès par l'eau courante
- ✓ Ajouter du Lugol et laisser pendant 1min, jeter l'excès par l'eau courante
- ✓ Traiter à l'alcool 95°(décoloration) pendant quelques secondes (5-10 secondes) puis rinçage à l'eau
- ✓ Recolorer à la Fuschine pendant 45 secondes, rinçage à l'eau puis séchage
- ✓ Les bactéries Gram positif se colorent en violet alors que les Gram négatif se colorent en rose

Annexe 2 : les milieux de cultures

+ Milieu Gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (BCP)

- Peptone.....5g/l
- Extrait de viande.....3g/l
- Lactose.....10g/l
- BCP0,025g/l
- Agar15g/l
- pH final = 7

+ Milieu Mannitol-Mobilité

- Peptone 20g/l
- Nitrate de Potassium 1g/l
- Mannitol 2 g/l
- Rouge de Phénol à 1% 4ml
- Agar 4 g/l
- pH=8, 1

+ Milieu Citrate de Simmons

- Sulfate de Magnésium 0,2g/l
- Phosphate mono ammoniacque1g/l
- Phosphate dipotassique.....1g/l

+ Milieu Kligler-Hajna

- Extrait de viande de bœuf.....3 g/l
- Extrait de levure.....3 g/l
- Peptone.....20 g/l
- NaCl.....5 g/l
- Citrate ferrique.....0,3 g/l
- Thiosulfate de sodium.....0,3 g/l
- Lactose.....10 g/l
- Glucose.....1 g/l
- Rouge de phénol.....0,05 g/l
- Agar.....12 g/l
- pH = 7,4

+ Milieu Clark et Lubs

- Peptone tryptique.....5 à 7g/l
- Glucose.....5g/l
- Phosphate bipotassique.....5g/l
- pH = 7

+ 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

Annexe 3 : les réactifs utilisés

+ Réactif de Voges-Proskauer

+ VP I

- Hydroxyde de Potassium.....40g/l
- Eau.....100ml

+ VP II

- α -naphtol 6 g/l
- Ethanol 100ml

+ Réactif de méthyle

- Eau bi distillée50 ml
- Ethanol absolu.....50 ml
- Rouge de méthyle.....0,1g

+ Réactif TDA

- Perchlorure de fer 3,4g/l
- Eau distillée stérile 100ml

+ Réactif Kovacs

- P-dimethyl aminobenzaldéhyde..... 7g/l
- Alcool amylique.....75ml
- Acide chlorhydrique concentré20ml

+ Disque d'oxydase

- Disques imprégnés d'une solution à 1% de chlorhydrate de Tétraméthylparaphénylènediamine.

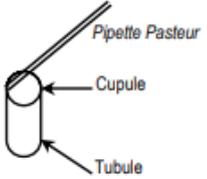
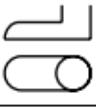
+ Solution de l'eau oxygénée à 10 %

- Eau oxygénée à 10 V.....0,5ml
- Eau distillée14,5ml
- Rouge de phénol.....0,05 g/l

- Agar.....12 g/l
- pH = 7,4

Annexe 4: la Galerie API 20E des entérobactéries

✚ Ensemencement de la Galerie API 20E

Remplir les tubules et les cupules des tests du type CIT		Remplissage des tubes :  Pipette Pasteur Cupule Tubule
Remplir les tubules des tests du type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l' anaérobiose .		
Remplir uniquement les tubules des tests restants		

✚ Tableau de lecteur de la Galerie API20E

Tab. 2 : Tableau de lecture de la galerie Api 20 E.

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Lecture directe		
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Lecture directe		
ODH	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Uree	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture Indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture Indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétolactone	Lecture Indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU & ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ ⁻ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture Indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

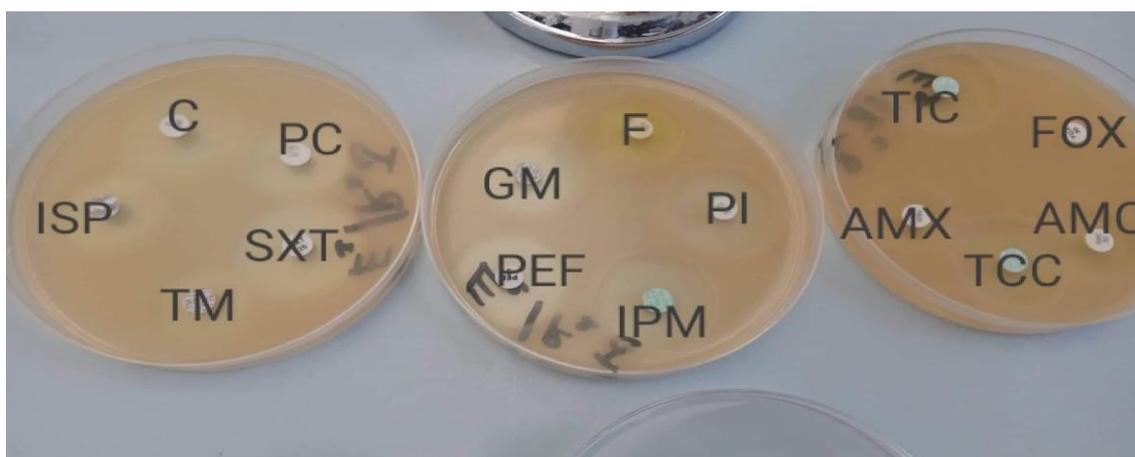
Annexe 5 : Antibiogramme par diffusion**Résultat d'antibiogramme de la souche d'Enterobacter Sakazakii****Résultat d'antibiogramme de la souche d'Enterobacter cloacae**

Tableau : des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries (CA-SFM, 2014)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour bacampicilline, pivampicilline. Cf. règle (1)
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 16	Cf. règle (1)
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 4/8	> 8/8	≥ 19	< 16	
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	≥ 21	< 16	Cf. règle (3).
Ticarilline	75 µg	≤ 8	16	≥ 24	< 22	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1) et (2).
Ticarilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22	
Pipéracilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 16	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1) et (2).
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 8/4	> 16/4	≥ 21	< 17	
Méccillinam	10 µg	≤ 8	> 8	≥ 18	< 18	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17	Voir note en annexe 1 : lettre d'information (p.56)
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	
Ertapénème	10 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 28	< 26	Déterminer la CMI en cas de résistance par diffusion à l'ertapénème avec sensibilité à l'imipénème.
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Aztréonam	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 27	< 21	Cf. règle (3).
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12	Interprétation valable pour les céphalosporines injectables de 1 ^{ère} génération (céfapirine, céfazoline). Interprétation également valable pour les céphèmes orales de 1 ^{ère} génération (céfadroxil, céfalexine, céfadrine, céfador, cefatrizine, loracarbef) mais uniquement pour les souches isolées des urines.
Céfuroxime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 22	< 22	
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Latamoxef	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17	Non commercialisé en France
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	Pour les céphalosporines de ce groupe cf. règle (3).
Ceftriaxone	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	
Ceftazidime	30 µg	≤ 1	> 4	≥ 26	< 21	
Céfépime	30 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 21	
Cefpirome	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 24	< 17	
Ceftaroline		≤ 0,5	> 0,5			
Céfixime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Interprétation valable pour néomycine, framycétine, paromomycine.
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (4), (7) et (9).
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (4) et (5).
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (4), (6) et (9)
Nétilmicine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19	Cf. règles (4), (8) et (9)
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline et la tigécycline. En cas d'utilisation thérapeutique, il y a lieu de déterminer la CMI pour les diamètres de 19 et 20 mm.
Minocycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	
Tigécycline	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 21	< 19	
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Les diamètres ont pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces, mais ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique. Interprétation valable pour polymyxine B
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime	5 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide. La charge des disques de cotrimoxazole n'étant pas adaptée, les souches isolées d'infections urinaires et catégorisées sensibles aux sulfamides et/ou au triméthoprime doivent être catégorisées sensibles au cotrimoxazole. Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17	Il est justifié de fournir une réponse globale pour l'ensemble du groupe des quinolones classiques (parfois appelées de première génération) en n'étudiant qu'un seul représentant de ce groupe. Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Fluméquinone	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21	
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15	
Acide pipémidique	20 µg	≤ 8	> 16	≥ 19	< 14	
Acide piromidique	25 µg	≤ 16	> 32	≥ 20	< 16	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule. Les souches d'entérobactéries sensibles à la norfloxacine (NOR) sont sensibles aux autres fluoroquinolones. Pour les souches I (ou R) à NOR, des différences d'activité intrinsèque impliquent un test et une réponse indépendante pour les autres molécules.
Enoxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	
Loméfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21	
Norfloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Ofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	Les souches de <i>Salmonella</i> spp. résistantes à l'acide nalidixique doivent être catégorisées résistantes aux fluoroquinolones.
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte. Interprétation valable pour la fosfomycine-trométamol.
Azithromycine		≤ 16				Valable pour <i>Salmonella</i> sérotype Typhi et <i>Shigella</i> spp.

Annexe 6: Fiche d'antibiotique

E.H .S SIDI-MABROUKLABORATOIRECENTRALCONSTANTINE

UNITE DE MICROBIOLOGIE

ANTIBIOGRAMME-ENTEROBACTERIES-

NOM.....PRENOM..... AGE.....

NATURE DE PRELEVEMENT.....SERVICE.....

DIAGNOSTIC BACTARIOLOGIQUE.....

AMOXILLINE		GENTAMYCINE		
AMOXILLINE+AC.CLAVULANIQUE		KANAMYCINE		
TICARCILLINE		TORBAMYCINE		
PIPERACILLINE		NETILMYCINE		
TAZOCILLINE		AMIKACINE		
CEFAZOLINE		ISEPAMYCINE		
CEFOTAXITINE		ACIDE NALIDIXIQUE		
CEFTAZIDIME		PEFLOXACONE		
CEFPIME		SULFAMETHOXAZONE+TRIMETHOPRIME		
IMIPENEME		COLSTINE		
MINOCYCLINE		CHLORAMPHENICOL		
FOSFOMYCINE		NITROFURANTOINE		

S : sensible , R : résistant , I : intermédiaire

Annexe 7 : les données de l'étude rétrospective

Malade	Nature de prélèvement	service	Sexe	Année
1	Urine	NRS	Féminin	2022
2	Urine	Ctx	Féminin	2022
3	Urine	Ctx	masculin	2022
4	Urine	TA	masculin	2020
5	Urine	Ctx	masculin	2019
6	Urine	TA	Féminin	2019
7	Urine	Réa	Féminin	2015
8	Urine	Chir	Féminin	2015
9	Hémoculture	Nur	masculin	2015
10	Hémoculture	Nur	masculin	2015
11	Hémoculture	Nur	Féminin	2015
12	Hémoculture	Nur	Féminin	2015
13	Hémoculture	Réa	Féminin	2016
14	Hémoculture	Réa	masculin	2016
15	Hémoculture	Nur	masculin	2016
16	Hémoculture	Chir	masculin	2016
17	Hémoculture	Nur	Masculin	2016
18	Hémoculture	Nur	Masculin	2016
19	Hémoculture	Nur	Masculin	2016
20	Hémoculture	Nur	Masculin	2016
21	Hémoculture	Réa	Féminin	2017
22	Hémoculture	Nur	Masculin	2017
23	Hémoculture	Réa	Féminin	2020
24	Hémoculture	Réa	Féminin	2020
25	Hémoculture	Réa	Féminin	2020
26	Pr kystique	Réa	Féminin	2019
27	Liquide péritonéal	Réa	Féminin	2019
28	Cathénaire	Nur	Masculin	2019
29	Cathénaire	Nur	Masculin	2019
30	Pus	CTX	Féminin	2020
31	Liquide péritonéal	Chir	Masculin	2020
32	Liquide péritonéal	Réa	Féminin	2020
33	Sonde	CTX	Féminin	2021
34	Cathénaire cebeal	Réa	Masculin	2021
35	KT central	Réa	Féminin	2021
36	Pus	Nur	Masculin	2022
37	Hémoculture	Réa	Féminin	2022

Annexe 8 : Résultats de l'antibiogramme de l'étude rétrospectif

A/S	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	
AMX	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	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	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TIC	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
PIP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CZ	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
FOX	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CTX	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R	
CAZ	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R	
IPM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
AN	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
CIP	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	
CS	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
NRF	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	R	S	S	

Annexe 9 : Nombre et pourcentage de souches résistantes et sensibles vis-à-vis les différents antibiotique testée

Antibiotique	Nombre de souches résistants	Nombre de souches sensibles	Pourcentage de résistance	Pourcentage de sensibilité
Amoxilline	26	0	100%	0%
Amoxilline +AC. CLAV ULANIQUE	26	0	100%	0%
TICARCILLINE	22	4	84,61%	15,38%
PIPERCILLINE	26	0	100%	0%
CEFAZOLINE	26	0	100%	0%
CEFOXITINE	26	0	100%	0%
CEFOTAXIME	18	8	69,23%	30,76%
CEFTAZIDIME	18	8	69,23%	30,76%
IMIPENEME	1	25	3,84%	96,15%
AMIKACINE	0	26	0%	100%
CIPROFLOXACINE	3	23	11,54%	88,46%
COLISTINE	0	26	0%	100%
NITROFURANETOINE	5	23	19,23%	80,76%

<p>Année universitaire : 2021-2022</p>	<p>Présenté par : Abdi Ghada Benabderrahmane Rayane Benamara Nour Elhouda</p>
<p>Isolement et Identification d'<i>Enterobacter sp.</i> et l'étude de la résistance aux antibiotiques</p>	
<p>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Moléculaire des Microorganismes</p>	
<p>Résumé</p> <p><i>Enterobacter</i> est un genre considéré comme un pathogène majeur inclut dans les causes croissantes d'infections opportunistes et nosocomiales, il constitue principalement une menace sérieuse dans le monde médical.</p> <p>Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une étude rétrospective sur sept années et sur le premier semestre de l'année 2022 au niveau de laboratoire de bactériologie de l'hôpital pédiatrique El-Mansourah, Constantine.</p> <p>Aussi nous avons effectué une étude pratique basée sur la recherche de la bactérie <i>Enterobacter sp.</i> dans l'eau d'Oued Salah Darradji El-Khroub, dans le but de réaliser un isolement sur milieux spécifiques suivi d'une identification biochimique complétée par la galerie API 20E.</p> <p>La résistance des souches aux antibiotiques a été étudiée par la méthode des disques diffusés sur milieu gélosé et interprétées selon les normes du CLSI.</p> <p>D'après les résultats de l'évaluation de l'antibiorésistance obtenus, la majorité des souches d'<i>Enterobacter sp.</i> sont résistantes particulièrement aux β-lactamines ainsi à plusieurs antibiotiques testés à l'exception de la Kanamycine, l'Imipenème et la Colistine qui restent actifs à 100% sur toutes les souches et les résultats de la partie pratique confirment que ce phénomène de résistance aux antibiotiques augmente de plus en plus et de façons inquiétante dans les milieux hospitaliers et aussi dans l'environnement.</p> <p>Mots clés : <i>Enterobacter sp.</i> , Isolement, Identification, résistance, antibiotiques.</p>	
<p>Mots-clés : <i>Enterobacter sp.</i> , Isolement, Identification, résistance, antibiotiques.</p>	
<p>Encadreur : Mme BOUZERAIB. L (M.A.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur 1 : Mme BOULTIFAT.L (M.C.B - Université Frères Mentouri, Constantine1). Examineur 2 : Mme ZERMANE .F (M.A.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	