



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Micro-organismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries
isolées de différents liquides de ponctions au niveau de l'hôpital
pédiatrique El Mansourah Constantine**

Présenté par : MILI Hafiza Dikra

Le : 12/06/2024

BENMALEK Khawla

MEGHZILI Khadidja

Jury d'évaluation :

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

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

Examineur(s) : Mme MERGOUD. L (M.A.A - UFM Constantine 1).

**Année universitaire
2023 - 2024**

Remerciements

*Le plus grand merci revient d'abord à « **ALLAH** » qui nous a donné la santé, la volonté et le courage pour entamer et terminer ce mémoire.*

*Nous tenons tout d'abord à exprimer nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Mme « **BOUZERAIB L** » qui a accepté de nous encadrer. Nous la remercions pour ses conseils, son aide, ses suggestions ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury Mme « **MEZIANI M** » qui nous a fait l'honneur de présider le jury et Mme « **MERGOUD L** » d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

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

Nous exprimons nos sincères remerciements.

-MERCI-



Dédicaces

Aujourd'hui et après toutes ces années, j'ai l'honneur, mais surtout le plaisir de dédier ce travail

A mon très cher PAPA «MOHAMED LAMINE »

De tous les pères, tu es le meilleur, Aucune dédicace ne saurait exprimer ma reconnaissance et mon profond amour. Je suis fier que tu sois mon père. Merci d'avoir été toujours là pour moi. Que Dieu te garde pour moi.

A ma très chère Maman « NADIA »

A celle qui m'a donné la vie, ma source de bonheur, mon exemple de courage, Sans toi, je ne suis rien. Je t'aime tellement. Merci d'avoir été toujours là. Que Dieu te garde pour moi.

A mes chères sœurs « YOUSRA et MAYA »

Je ne peux pas exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour envers vous. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, et d'être comblé de bonheur. Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir encouragé.

A mes meilleures amies «HIDAYA IMENE et AMANI »

Vous êtes pour moi des sœurs, merci de me supporter dans tous les moments difficiles, Je vous aime beaucoup. Puisse Dieu prospérer notre amitié jusqu'à la fin de nos jours.

A tous ceux qui je n'ai pas cité ici et qui ont une place dans mon cœur.

Dikra



Dédicaces

Après un parcours académique qui a duré des années, cela a conduit à de nombreuses difficultés, épreuves et fatigues. Et me voilà aujourd'hui, sur le point d'obtenir mon diplôme, récoltant les fruits de mon travail et levant mon chapeau avec fierté, avec l'aide de dieu tout puissant, qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie

À mon Soutien 'ma Source de force et mon modèle, ma première et éternelle supportrice, ma mère «SALHA» Qui m'a soutenu dans ses prières et supplications, merci pour ton amour inconditionnel, ton dévouement et ton soutien inébranlable.

À la chose la plus précieuse que j'ai à celui qui me rend fier de lui appartenir et de me souvenir de lui, mon chère père «MOUNIR» qui m'a soutenu sans limites et m'a donné sans en retour, je te suis infiniment reconnaissant pour ton soutien indéfectible et ta confiance en moi.

À mon soutien dans la vie après mon père, à celui qui m'a soutenu sans relâche dans mes moments de faiblesse, mon cher frère «FOUZI» ma fierté dans cette vie, que Dieu te garde comme un soutien indéfectible pour moi.

À ceux dont la présence dans ma vie suffit à mille sentiments, à celles avec qui j'ai grandi et sur lesquelles j'ai compté, à celles dont j'ai tiré force et amour illimité, mes belles sœurs «KENZA, MERJEM, AMIRA et ASMA» Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études.

À mes amis des situations, pas des années, partenaires du long chemin, de la plus belle coïncidence de mille choix, mes très chères amis «MALAK, WISSAL, CHAIMA et SAFA» merci pour votre amitié sincère.

Sans oublier mes binômes «DIKRA et KHAWLA pour son soutien moral sa patience et sa compréhension tout au long de ce projets, merci pour notre collaboration fructueuse et notre amitié.

Enfin, merci à tous ceux qui m'ont donné la force de continuer

À vous tous, un grand Merci.

Khadija



Dédicaces

Avec un énorme plaisir. Un cœur ouvert et une immense joie. Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant De m'avoir donné la force et le courage pour accomplir ce modeste travail que je dédie

A toi, à bien-aimé du cœur, présent et absent, à toi qui étais présent en esprit mais absent de corps, à toi qui fus l'amant, de mon père. Il n'y a personne comme toi dans le monde.

A ma mère «AMEL» Pour ton amour, tes prières et pour tous les sacrifices inconditionnels que tu as fait pour moi, je n'en serais pas là sans ton soutien constant, Quoi que je dise, je ne saurai te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Tu as été toujours une mère idéale.

A mon très cher frère «NOUREDDINE» Mon cher frère qui est présent dans tous mes moments d'examens par son soutien moral, c'est mon ange gardien et mon fidèle accompagnant dans les moments les plus délicats de cette vie. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

A ma chère sœur «SOUMIA et HADJAR» qui sont aussi mes meilleures amies, qui ont été mes piliers dans les moments difficiles et mes partenaires de fête dans les moments de joie, merci pour votre amitié sincère, votre soutien sans faille et votre amour inconditionné.

A mes neveux «IYAD, ANES, AMIR et AYMEN» qui ont rempli ma vie de tant de bonheur et de joie.

À mes très chères «NESRINE et HADIL» merci pour votre soutien constant, votre humour contagieux et votre présence réconfortante. Vous êtes ma source de joie et de bonheur, et je suis fière de vous avoir dans ma vie.

Au-delà des noms cités, il existe un cercle précieux de personnes qui ont joué un rôle significatif dans mon parcours. Je vous exprime ma reconnaissance pour votre présence et votre soutien qui ont marqué positivement ma vie.

Khawla



Résumé

L'antibiorésistance est un phénomène en évolution permanente qui concerne l'ensemble du monde bactérien et toutes les familles d'antibiotiques thérapeutiques. Ce travail vise à déterminer le profil de résistance aux antibiotiques de certaines entérobactéries isolées de différents liquides de ponction au laboratoire de bactériologie de l'hôpital pédiatrique El Mansourah, Constantine. 20 souches d'entérobactéries ont été isolées (11 souche d'*E. coli*, 07 de *K. pneumoniae*, 01 d'*Enterobacter* spp et 01 de *Salmonella* spp). Ces souches présentent des profils de résistances différents. Des pourcentages élevés sont obtenus pour l'Amoxicilline (90%), l'Amoxicilline + l'acide clavulanique (80%), la Ticarcilline (80%), la Céfazoline (60%) et la Sulfamethoxazole + triméthoprim (60%) et une moyenne résistance pour l'Acide Nalidixique (55%), l'Aztreonam (50%) et la Céfipime (45%), la Céfotaxime (40%) et une faible résistance pour la Céfoxitine (35%), la Gentamycine (35%), la Ciprofloxacine (25%), l'Imipénème (20%), la Torbramycine (20%), la Fosfomycine (10%) et l'Amikacine (5%) Tandis que la Colistine et la Chloramphénicol qui restent sensible à 100% sur toutes les souches. Cette antibiorésistance présente un énorme risque pour la santé humaine.

Mots clés : Antibiotiques, Antibiorésistance, Entérobactéries, Liquides des ponctions.

Abstract

Antibiotic resistance is a constantly evolving phenomenon that concerns the entire bacterial world and all therapeutic antibiotic families. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance profile of certain enterobacteria isolated from different puncture fluids in the bacteriology laboratory of the El Mansourah paediatric hospital, Constantine. 20 strains of enterobacteria were isolated (11 *E. coli*, 07 *K. pneumoniae*, 01 *Enterobacter* spp and 01 *Salmonella* spp). These strains presented different resistance profiles. High percentages are obtained for Amoxicillin (90%), Amoxicillin + clavulanic acid (80%), Ticarcillin (80%), Cefazolin (60%) and Sulfamethoxazole+ trimethoprim (60%) and average resistance for Nalidixic acid (55%), Aztreonam (50%) and Cefpime (45%), Cefotaxime (40%) and low resistance for Cefoxitin (35%), Gentamycin (35%), Ciprofloxacin (25%), Imipenem (20%), Torbramycin (20%), Fosfomicin (10%) and Amikacin (5%). Colistin and Chloramphenicol remain 100% sensitive on all strains. This antibiotic resistance poses an enormous risk to human health.

Keywords : Antibiotics, Antibiotic resistance, Enterobacteria, Puncture fluids.

ملخص

تعد مقاومة المضادات الحيوية ظاهرة تتطور باستمرار وتؤثر على العالم البكتيري بأكمله وجميع عائلات المضادات الحيوية العلاجية. كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد ملامح مقاومة المضادات الحيوية لبعض البكتيريا المعوية المعزولة من سوائل البزل المختلفة في مختبر البكتيريا في مستشفى المنصورة لطب الأطفال في قسنطينة. 20 سلالة من البكتيريا المعوية تم عزلها (11 سلالة من الإشريكية القولونية، و07 من بكتيريا الكورتيوزونا، و01 من بكتيريا المعوية و01 من بكتيريا السالمونيلا). قدمت هذه السلالات ملامح مقاومة مختلفة. تم الحصول على نسب مقاومة عالية لأموكسيسيلين (90%) وأموكسيسيلين + حمض الكلافولانيك (80%) وتيكارسيلين (80%) وسيفازولين (60%) وسلفاميثوكسازول + تريمثوبريم (60%) ومقاومة متوسطة لحمض الناليديكسيك (55%) وأزترونام (50%) وسيفيم (45%)، وسيفوتاكسيم (40%) ومقاومة منخفضة لسيفوكسيتين (35%) وجنتاميسين (35%) وسيبروفلوكساسين (25%) وإيمبيينيم (20%) وتوربراميسين (20%) وفوسفوميسين (10%) وأميكاسين (5%). يبقى الكوليستين والكلورامفينيكول حساسًا بنسبة 100% لجميع السلالات. تشكل هذه المقاومة للمضادات الحيوية خطرًا كبيرًا على صحة الإنسان.

الكلمات المفتاحية : المضادات الحيوية، مقاومة المضادات الحيوية، البكتيريا المعوية، السوائل المتقوية.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification phylogénique des entérobactéries	5
Tableau 2 : Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine	6
Tableau 3 : Caractères biochimiques de quelques entérobactéries	8
Tableau 4 : Principales familles d'antibiotiques	14
Tableau 5 : Caractères biochimiques des souches d'entérobactéries isolées.....	34

Liste des figures

Figure 1 : L'aspect microscopique des entérobactéries	4
Figure 2 : Structure microscopique des <i>Enterobacteriaceae</i>	9
Figure 3 : Chronologie du développement d'antibiotiques et l'évolution de la résistance aux antibiotiques	13
Figure 4 : Mécanismes d'action des antibiotiques.....	15
Figure 5 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques.....	19
Figure 6 : Représentation schématique d'une ponction lombaire.....	22
Figure 7 : Représentation schématique d'un épanchement pleural.....	23
Figure 8 : Représentation schématique d'un épanchement péritonéal.....	24
Figure 9 : Représentation schématique d'un liquide péricardique.....	24
Figure 10 : Représentation schématique d'un liquide articulaire.....	25
Figure 11 : Aspect macroscopique des Colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur milieu Hektoen	33
Figure 12 : Observation microscopique de <i>Klebsiella pneumoniae</i> après coloration de Gram	34
Figure 13 : Caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i> par la galerie biochimique classique	35
Figure 14 : Caractères biochimiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> par la galerie biochimique classique	35
Figure 15 : L'antibiogramme d'une souche d' <i>Escherichia coli</i>	36
Figure 16 : L'antibiogramme d'une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	36
Figure 17 : Répartition des souches isolées selon le service (n=20).....	37
Figure 18 : Répartition des souches isolées selon le sexe (n=20).....	37
Figure 19 : Répartition des souches isolées selon la nature de ponction (n=20)	38
Figure 20 : Répartition des souches isolées selon l'espèce bactérienne (n=20)	38
Figure 21 : Profil global de résistance des souches isolées (n=20).....	39
Figure 22 : Taux de résistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés	40
Figure 23 : Taux de résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés	41
Figure 24 : Production des β -lactamases à spectre élargi (n=20).....	42

Liste des abréviations

AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique

AMX : Amoxicilline

AN : Amikacine

ATM : Aztreonam

BLSE : Bêta-Lactamases à Spectre Etendue

C : Chloramphénicol

C3G : Céphalosporines de troisième génération

CAT : Chloramphénicol Acétyltransférase

CIP : Ciprofloxacine

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CPM : Céfipime

CS : Colistine

CTX : Céfotaxime

E. coli : *Escherichia coli*

FOS : Fosfomycine

FOX : Céfoxitine

GEN : Gentamycine

IPM : Imipenème

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

NAL : Acide Nalidixique

SC : Service Contagieux

SXT : Sulfaméthoxazole+ triméthoprime

TIC : Ticarcilline

TM : Torbramycine

TSI : Triple Sugar Iron Agar

Table des matières

<i>Remerciements</i>	I
<i>Dédicaces</i>	II
Résumé	V
Liste des tableaux	VIII
Liste des figures	IX
Liste des abréviations	X
Table des matières	XI
Introduction	1

Chapitre I : Les entérobactéries

1. Historique.....	4
2. Définition	4
3. Habitat.....	5
4. Classification.....	5
5. Caractères bactériologies des entérobactéries	6
5.1. Caractères morphologiques	6
5.2. Caractères cultureux	7
5.3. Caractères biochimiques	7
5.4. Caractères antigéniques	8
6. Pouvoir pathogène	9
7. Etude des principaux entérobactéries.....	10
7.1. <i>Escherichia</i>	10

7.2.	<i>Shigella</i>	10
7.3.	<i>Klebsiella</i>	10
7.4.	<i>Proteus-Providencia</i>	10
7.5.	<i>Salmonella</i>	11
7.6.	<i>Enterobacter</i>	11
7.7.	<i>Yersinia</i>	11
8.	Traitement.....	11

Chapitre II : La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries

1.	Historique.....	13
2.	Définition.....	13
3.	Classification.....	13
4.	Mécanismes d'action.....	14
5.	Principaux antibiotiques utilisés.....	15
5.1.	β -lactamines.....	15
5.2.	Aminosides ou aminoglycosides.....	15
5.3.	Quinolones / fluoroquinolones.....	16
5.4.	Macrolides.....	16
5.5.	Divers antibiotiques.....	16
6.	BLSE « β -lactamases à spectre élargi ».....	16
II.	Résistance aux antibiotiques.....	16
1.	Notions de l'antibiorésistance.....	16
1.1.	Définition thérapeutique.....	17

1.2.	Définition épidémiologique.....	17
1.3.	Définition génétique.....	17
1.4.	Définition clinique.....	17
2.	Types de la résistance aux antibiotiques.....	17
2.1.	Résistance naturelle.....	17
2.2.	Résistance acquise.....	17
2.2.1.	Résistance chromosomique.....	18
2.2.2.	Résistance extra chromosomique.....	18
3.	Résistance des entérobactéries aux antibiotiques.....	19

Chapitre III : Liquides biologiques des ponctions

1.	Définition.....	22
2.	Types de ponctions.....	22
2.1.	Ponction lombaire.....	22
2.1.1.	Liquide céphalo-rachidien.....	22
2.2.	Ponction pleurale.....	23
2.2.1.	Liquide pleural.....	23
2.3.	Ponction d'ascite.....	23
2.3.1.	Liquide d'ascite.....	23
2.4.	Ponction péricardique.....	24
2.4.1.	Liquide péricardique.....	24
2.5.	Ponction articulaire.....	25
2.5.1.	Liquide articulaire.....	25

3. Microbiologie des liquides.....	25
------------------------------------	----

MATERIEL ET METHODES

1. Lieu et durée de l'étude.....	27
1.1. Centre de l'étude	27
1.2. Duré et type de l'étude	27
1.3. Services et origines des souches.....	27
2. Matériel	27
3. Méthodes.....	28
3.1. Analyse cyto bactériologique des liquides de ponction	28
3.2. Identification bactérienne	29
3.2.1. Examen macroscopique	29
3.2.2. Examen microscopique.....	29
3.3. Tests d'orientation.....	29
3.4. Identification par les Galeries biochimiques classiques.....	30
3.5. Antibiogramme.....	30

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats	33
I. Résultats de la partie pratique	33
1. Identification bactérienne.....	33
1.1. Aspect macroscopique.....	33
1.2. Aspect microscopique	33
1.2.1. Examen à l'état frais	33

1.2.2.	Examen après coloration de Gram.....	33
1.3.	Tests d'orientation.....	34
1.4.	Galerie biochimique classique	34
1.5.	Détermination du profil d'antibiorésistance.....	35
1.	Répartition des données	36
1.1.	Répartition des souches isolées selon les services	36
1.2.	Répartition des données selon le sexe	37
1.3.	Répartition des souches isolées selon la nature des ponctions.....	37
1.4.	Répartition des souches isolées selon l'espèce bactérienne	38
2.	Profil de résistance et de sensibilité des entérobactéries isolées aux antibiotiques	38
2.1.	Profil de résistance et de sensibilité d' <i>Escherichia coli</i>	39
2.2.	Profil de résistance et de sensibilité de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
2.3.	Profil de résistance et de sensibilité de <i>Salmonella</i> spp	41
2.4.	Profil de résistance et de sensibilité d' <i>Enterobacter</i> spp	41
2.5.	Production de BLSE.....	42
	Discussion	43
1.	Discussion des résultats statistiques.....	43
2.	Antibiorésistance.....	43
	Conclusion.....	48
	Références bibliographiques	51
	Annexes	

Introduction

Introduction

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 naturellement résistant aux antibiotiques et les plus anciens 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 bactéries ont acquis au cours des derniers temps une résistance aux antibiotiques actuellement employées. Parmi les germes responsables d'infections bactériennes les entérobactéries (**Ebongue et al., 2015**). Ces dernières forment une vaste famille de bactéries à Gram-négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts (**Mirabaud, 2003**).

Les liquides des ponctions sont des liquides d'épanchement correspondent à une quantité anormale de liquide dans les séreuses, il s'agit des liquides céphalo-rachidien, des liquides pleuraux, des liquides d'ascites, des liquides articulaires, des liquides péricardiques ou de tout autres liquides corporels normalement stériles pouvant être prélevé par ponction (**Oukrid et al., 2020**).

Ce travail a pour but d'étudier l'émergence des entérobactéries isolées de différents liquides de ponctions au laboratoire de bactériologie de l'hôpital pédiatrique El Mansourah, Constantine, et de déterminer la fréquence de résistances aux antibiotiques de ces souches de entérobactéries.

A la lumière d'une documentation bibliographique notre manuscrit est divisé en trois parties

- Une première partie représentant une synthèse bibliographique composée de trois chapitres
- ✓ Le premier chapitre comporte des généralités sur les entérobactéries, comme l'habitat, la classification, les caractères morphologiques, culturels, biochimiques et antigéniques pour terminer avec des notions sur le pouvoir pathogène et étude des principales espèces.
- ✓ Nous avons abordé en deuxième lieu, le chapitre des antibiotiques, en soulignant les principaux antibiotiques utilisés, les types de la résistance et la résistance des entérobactéries aux antibiotiques.

- ✓ Le troisième chapitre consiste en l'étude des différents liquides des ponctions : liquide céphalo-rachidien, liquide pleural, liquide d'ascite, liquide articulaire, liquide péricardique.
- Une deuxième partie présentera le matériel et les méthodes expérimentales utilisées.
- Une troisième partie portera sur l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent.
- Nous terminerons ce travail par une quatrième partie qui sera consacrée à la conclusion et perspectives.

Chapitre I :

Les entérobactéries

1. Historique

La naissance des entérobactéries a eu lieu en 1937, lorsqu'Otto Rahn a proposé le genre *Enterobacter* pour regrouper des micro-organismes partageant des caractéristiques biochimiques et morphologiques similaires, parmi lesquels on a trouvé des espèces telles que *Salmonella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* et *Shigella*. Deux ans plus tard, cette description qui portait sur 112 espèces a été réduite à 67. En 1997, 31 genres et 139 espèces étaient identifiés (Freney et al., 2000).

2. Définition

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif ont une taille moyenne de 0,5µm sur 3µm, sont immobiles ou mobiles, mais toujours avec une ciliature péritriche (à l'exception de *Tatumella*), Des capsules peuvent être présentes et jamais de spores, se développe facilement sur des milieux ordinaires, aérobie anaérobies facultatifs, fermentent le glucose avec ou sans gaz, ne possèdent pas d'oxydase, réduisent les nitrates en nitrites (avec quelques exceptions chez *Erwinia*), et sont à catalase positive (sauf *Shigella dysenteriae*) (Larpen, 1997). (Figure1).

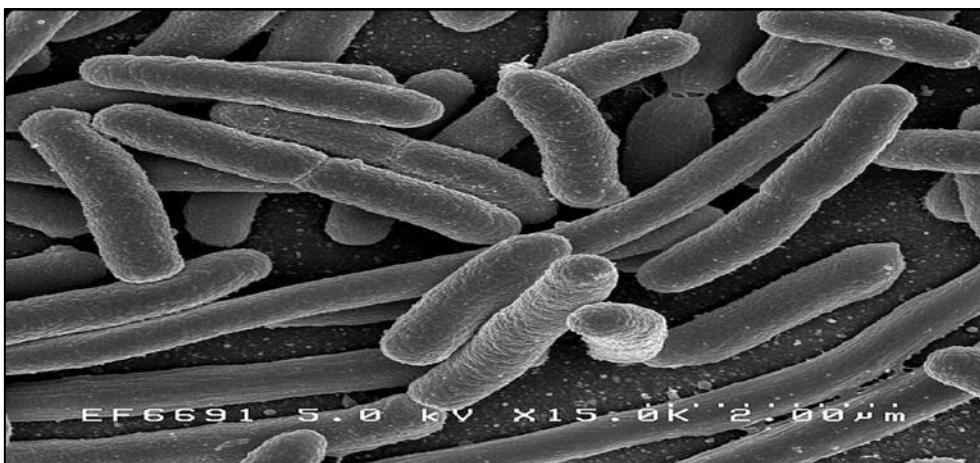


Figure 1 : L'aspect microscopique des entérobactéries

(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterobacteriaceae>)

Parmi les entérobactéries, des nombreuses espèces sont pathogènes pour l'homme, les animaux et les plantes ; d'autres ont une importance industrielle. La plus connue de toutes les espèces bactériennes est *Escherichia coli* (Madigan et al., 2007).

3. Habitat

Les entérobactéries sont des bactéries présentes partout qui occupent un large habitat, sont des hôtes normaux ou pathologiques du tube digestif humain et de nombreux animaux à sang chaud relativement peu rencontrée dans d'autres sites du corps, sont également retrouvées dans l'environnement (sol, eau...), sur les végétaux. Certaines ont un pouvoir phytopathogène ou participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement (**Bouzeraa et al., 2018**).

4. Classification

La classification des entérobactéries est représentée dans le tableau 1

Tableau 1 : Classification phylogénique des entérobactéries (**Delarras, 2007**)

Rangs taxonomiques	Classification
Domaine	<i>Eubacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

On retrouve principalement 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (**Zrardi, 2020**). (Tableau 2).

Tableau 2 : Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine (Zrardi, 2020)

	TRIBU	GENRES	ESPECES
GROUPE 01	<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
GROUPE 02	<i>Escherichieae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonne</i>
	<i>Levineae</i>	<i>Levinea</i>	
GROUPE 03	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxymore</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogen</i> <i>Enterobacter cloaceae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
GROUPE 04	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
GROUPE 05	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>

5. Caractères bactériologiques des entérobactéries

5.1. Caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie généralement typique, sous forme de bacilles Gram négatif de 2 à 4µm longueur et de 0,4 à 0,6µm largeur, qui peuvent être mobiles par ciliature péritriche ou immobiles, non sporulés et peuvent être capsulés. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili communs qui agissent comme facteurs d'adhésion (Terkja, 2014).

5.2. Caractères cultureux

Les entérobactéries poussent facilement sur des milieux ordinaires en 24 h à 37°C que ce soit en aérobose ou en anaérobose. En général, leurs besoins nutritionnels sont réduits et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple tel que le glucose. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5 - 8) et ils sont assez tolérants aux changements de la pression osmotique. On distingue les 5 formes de colonies suivantes

- **Colonies S (smooth)** : Les colonies sont arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides.
- **Colonies R (rugueuses)** : Les colonies sont sèches à contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales).
- **Colonies M (muqueuses)** : Les colonies sont plus grosses (*Klebsiella* spp).
- **Colonies envahissantes ou nappantes** : formation d'un tapis uniforme (*Proteus*).
- **Colonies naines** : Elles s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques (Akel, 2014).

5.3. Caractères biochimiques

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

Tableau 3 : Caractères biochimiques de quelques entérobactéries (**Kassama et al., 2013**)

	<i>Escherichiae</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Protens</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
GLu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LAC	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
CIT	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mob	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
H₂S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

Glu : Glucose ; **Lac** : Lactose ; **ONPG** : Orthonitrophénol-bêta-galactosidase ; **VP** : Voges-Proskauer ; **Cit** : Citrate ; **Mob**: Mobilité ; **H₂S**: Sulfure d'hydrogène

(+) : Résultat positif ; (-) : Résultat négatif ; (+/-) : Variable

5.4. Caractères antigéniques

Les entérobactéries possèdent différents antigènes

- **L'antigène de Kunitz** s'agit d'un antigène commun appelé ECA (pour Enterobacterial Common Antigen). On le retrouve uniquement chez les entérobactéries.
- **Les antigènes O ou somatiques** correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides. Ils sont thermostables et résistent à l'alcool ou l'acide.
- **L'antigène R** correspond au polysaccharide du core central, auto agglutinable dans l'eau physiologique, plus sensibles aux substances bactéricides du sérum et est plus facile à phagocyter, donc il est moins pathogène.

- **Les antigènes H ou flagellaires** présents uniquement dans les souches mobiles. Constitués de protéines spécifique appelée flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.
- **Les antigènes de surface** comprennent les antigènes K ou capsulaires qui sont généralement constitués d'une couche externe de polysaccharide ; les antigènes d'adhérence qui sont essentiellement des protéines et portés par des pili communs (également appelés fimbriae) (Maddi et al., 2022).

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

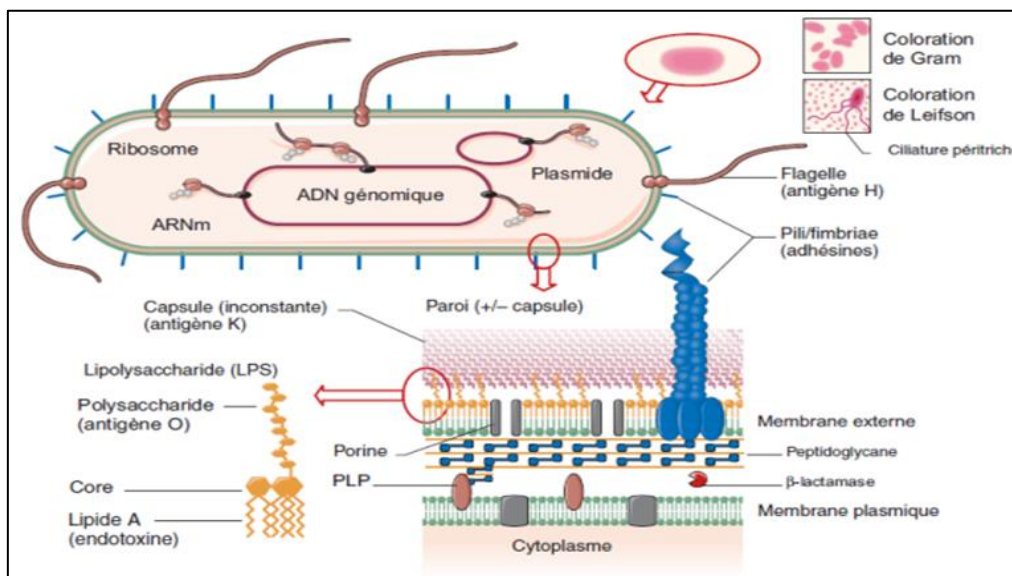


Figure 2 : Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae* (Denis et al., 2007)

6. Pouvoir pathogène

Chez l'homme, les entérobactéries ont un pouvoir pathogène important. Les infections sont soit clairement définies et peuvent toucher tous les patients soit non spécifiques touchant les personnes immunodéprimés, notamment celles hospitalisées.

Dans la plupart des cas, l'infection peut être soit endogène à partir des flores bactériennes, soit exogène provenant de milieu extérieur. Plusieurs infections sont causées par les entérobactéries.

Les infections communautaires, sont principalement les infections urinaires principalement causées par *Escherichia coli*, les intoxications alimentaires causées par les *Salmonelles* et les infections pulmonaires causées par *Klebsiella pneumoniae*.

Les infections nosocomiales telles que les infections urinaires, les plaies opératoires, les infections pulmonaires, les septicémies, ainsi que d'autres localisations. En plus des bactéries

mentionnées dans les infections communautaires avec un profil de multi résistance on mentionne : *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* sp et *Serratia* sp (Fatnassi, 2020).

7. Etude des principaux entérobactéries

7.1. *Escherichia*

C'est un hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, c'est l'espèce aérobie anaérobie facultative la plus fréquente dans le tube digestif. Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *Escherichia coli*, *Escherichia albertii*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia vulneris*, *Escherichia blattae* (Ould baba ali et al., 2019).

7.2. *Shigella*

Les *Shigelles* sont des bactéries pathogènes pour l'homme. Ils ne surviennent que chez les malades, chez les convalescents et rarement chez les porteurs sains. Elles sont à l'origine de la « dysenterie bacillaire » qui décimait les armées en campagne (Ould baba ali et al., 2019).

7.3. *Klebsiella*

Parmi les entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se caractérisent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés. Cependant, plusieurs espèces peuvent être distinguées, mais la plus courante en clinique humaine est *Klebsiella pneumoniae* (Ould baba ali et al., 2019).

7.4. *Proteus-Providencia*

Au sein des entérobactéries, le groupe *Proteus-Providencia* se caractérise principalement par les deux caractéristiques suivantes

- Présence de tryptophane désaminase.
- Pénétration constante dans la gélose nutritive.

Ils sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux, et peuvent dans certains cas se montrer pathogènes et provoquer diverses infections telles que l'entérite, cystite, otite, méningite. Ces infections sont de plus en plus courantes (Ould baba ali et al., 2019).

7.5. *Salmonella*

Les *Salmonelles* qui se trouvent dans l'eau et dans divers aliments, sont pathogènes, soit pour l'homme (*Salmonella typhi*), soit pour les animaux (*Salmonella abortus ovis*). Chez l'homme, elles sont à l'origine de la fièvre typhoïde et de gastro-entérites.

La morphologie est similaire à celle des entérobactéries. Certaines souches qui sont généralement mobiles peuvent se présenter immobiles à l'isolement, en général les colonies ont une taille de 1,5 à 3 mm après 24 h à 37 °C et apparaissent en forme S après l'isolement (**Ould baba ali et al., 2019**).

7.6. *Enterobacter*

Les *Enterobacter cloacae* sont des espèces du genre *Enterobacter* qui sont fréquemment présents chez les patients hospitalisés, notamment ceux qui sont traités par des antibiotiques. Ils ont été associés à des épidémies d'infections nosocomiales et sont considérés comme des agents pathogènes opportunistes (**Ould baba ali et al., 2019**).

7.7. *Yersinia*

Les *Yersinia* comprennent trois espèces principales pour l'homme qui sont *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* (**Delarras, 2007**).

8. Traitement

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 qu'un antibiotique spécifié 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 (**Gadou, 2019**).

Parmi les grandes familles d'antibiotiques qui peuvent être administrées pour le traitement des infections à *Enterobactriaceae* : les β -lactamines, les aminosides, les fluoroquinolones et l'association triméthoprime - sulfaméthoxazole (**Zalif et al., 2021**).

Chapitre II :
La résistance aux
antibiotiques chez les
entérobactéries

I. Généralités sur les antibiotiques

1. Historique

Pasteur et Joubert mettent en évidence la notion d'antagonisme microbien (antibiotiques) en 1877 : des cultures de bactéries charbonneuses se développent mal lorsqu'elles sont contaminées par certaines bactéries saprophytes. Depuis 1912 à 1940, plusieurs antibiotiques ont été découverts.

Dès lors, de nombreux antibiotiques ont été identifiés : Chloramphénicol, Tétracyclines en 1949, Aminosides en 1950, Macrolides en 1952, Glycopeptides en 1958, Streptogramines en 1962, Triméthoprime en 1970 et Oxazolidinones en 2000 (**Ramdani et al., 2009**). (Figure3).

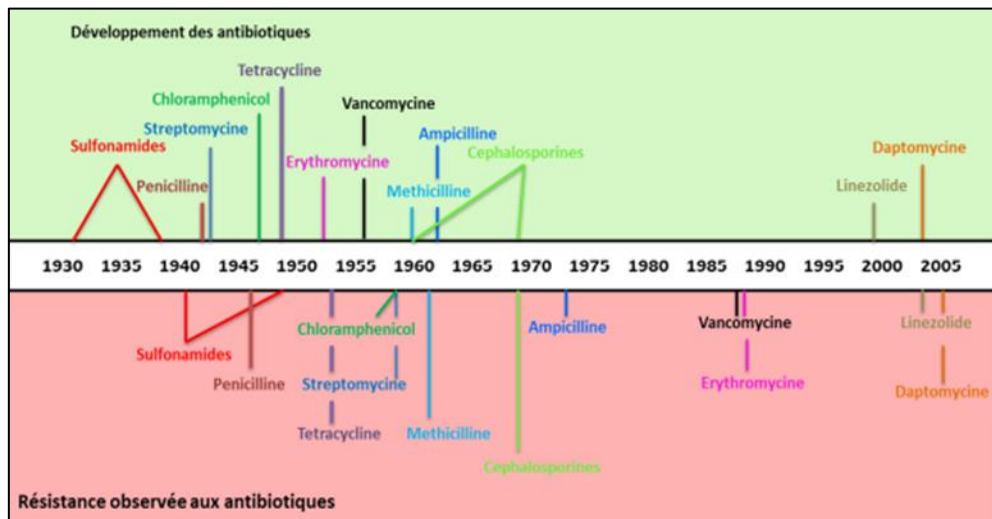


Figure 3 : Chronologie du développement d'antibiotiques et l'évolution de la résistance aux antibiotiques (**Bouaziz, 2019**)

2. Définition

Les antibiotiques (Du grec anti : contre, et bios : vie) sont des substances produites par des microorganismes (procaryotes ou eucaryotes) ou obtenues actuellement par synthèse ou semi-synthèse et pouvant inhiber la multiplication (action bactériostatique) ou de tuer d'autres microorganismes (action bactéricide) (**Talbert et al., 2015**).

3. Classification

Les antibiotiques sont classés en fonction de leur (**Brahmia et al., 2016**)

- Mode d'action : action sur la paroi, la membrane cytoplasmique, etc.
- Spectre d'activité : sur les cocci gram positives, les cocci gram négatives ou autres.

- Origine de la molécule : naturelle, synthétique ou semi synthétique.
- Structure chimique : très variable, elle repose généralement sur une structure de base (par exemple : cycle β -lactame).

Le tableau 4 représente les principales familles d'antibiotiques

Tableau 4 : Principales familles d'antibiotiques (Paolozzi et al., 2015)

Familles	Caractéristiques chimiques	Sous familles
β -lactamines	Cycle à 4, 5 ou 6 atomes de C avec un –NH fixé au C- β	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, monobactames
Glycopeptides	Heptapeptide cyclique liant un sucre (mannose, glucisamine ou glucose)	Téicoplanine, vancosamine, vancomycine
Tétracyclines	Noyau naphtacène-carboxamidetétracyclique lié à des substituants en position 5, 6, 7	
Macrolides et apparentés	Anneau macrolactonique modifié par un ou plusieurs sucres	
Phénicolés	Dérivés de l'acide dichloroacétique et d'un phénylsubstitué	Chloramphénicoles, thiamphénicoles
Aminosides	Aminocyclitol, lié à 2 ou rarement 3 oses	Streptomycine
Ansamycines	2 cycles aromatiques liés par une longue chaîne constituée d'un aminocyclitol auquel sont liés des oses	Rifampycine, rifamycine, rifabutine
Sulfamides	Para-aminobenzène sulfamide	
Triméthoprime	diaminopyrimide	Inhibiteur compétitif la dihydrofolate-réductase
Polymyxines	Antibiotiques peptidiques cycliques	Polymyxines B et E

4. Mécanismes d'action

L'antibiotique agit essentiellement par inhibition de réaction de synthèse variée en se fixant sur des sites spécifiques de la cellule bactérienne provoquant ainsi la perturbation de différentes réactions métaboliques. Chaque famille d'antibiotiques agit sur des cibles spécifiques.

- Les antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.
- Les antibiotiques qui modifient la perméabilité de la membrane cytoplasmique.
- Les antibiotiques qui inhibent la production des protéines.
- Les antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques (Saadaoui, 2008).

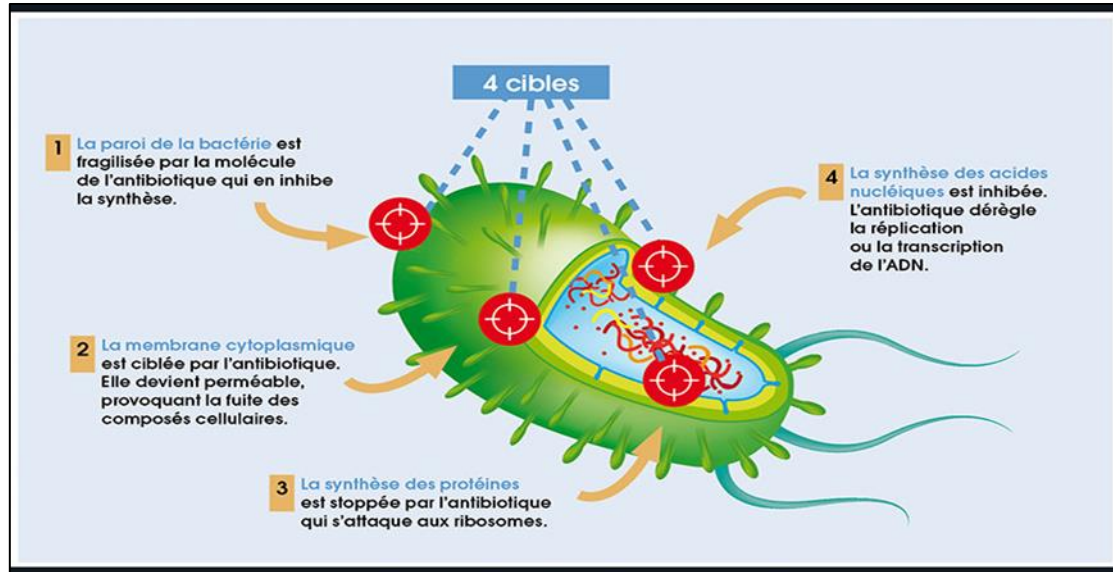


Figure 4 : Mécanismes d'action des antibiotiques (Marin, 2018)

5. Principaux antibiotiques utilisés

5.1. β -lactamines (Ramdani et al., 2009)

Ce sont des antibiotiques caractérisés par leur structure de base : le noyau β -lactame. Elles sont classées en 4 groupes principaux

- **Les pénames** : principalement les pénicillines (ampicilline et ses dérivés, Ticarcilline, ...), et Oxapénames (Acide clavulanique, Acide + Amoxicilline, Acide + Ticarcilline).
- **Les céphèmes** : comprennent principalement les céphalosporines, répartis en 4 générations (C1G, C2G, C3G et C4G).
- **Les pénèmes** : Les carbapénèmes (Imipénème) sont des antibiotiques à large spectre.
- **Les β -lactamines monobactames** : Les monobactames et l'aztéronam actifs particulièrement sur *Pseudomonas aeruginosa*.

5.2. Aminosides ou aminoglycosides

Sont des antibiotiques bactéricides à large spectre, en association avec d'autres familles d'antibiotiques, principalement des β -lactamines (effet synergique). Ils sont actifs contre Staphylocoque méti-S et bactéries aérobies anaérobie facultatives à Gram négatif (*Enterobacteriaceae*). Ils agissent sur la synthèse des protéines bactériennes en se liant à la sous-unité 30S du ribosome (Adja, 2005).

5.3. Quinolones / fluoroquinolones

Sont des substances synthétiques à activité bactéricide qui inhibent des enzymes telles que la Topoisomérase ou l'ADN gyrase qui jouent un rôle dans l'enroulement des brins d'ADN. Ils sont actifs uniquement sur les germes à Gram négative (**Delmee, 2004**).

5.4. Macrolides

Les macrolides sont principalement des antibiotiques bactériostatiques. En se liant à la sous-unité 50S du ribosome, ils inhibent la synthèse des protéines bactériennes (**Brian, 2022**).

5.5. Divers antibiotiques

- **Fosfomycine**

C'est un antibiotique bactéricide à large spectre, actif sur la plupart des entérobactéries et sur des Staphylocoques. Il agit au début de la synthèse du peptidoglycane aux chaînes glucidiques. Il se fixe de manière covalente à l'enzyme qui participe à la production de l'acide N-acétyl-muramique (**Adja, 2005**).

6. BLSE « β -lactamases à spectre élargi »

Les premières observations des espèces productrices de BLSE étaient en Europe et rapidement après aux États-Unis à partir de 1983.

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

Elles sont inhibées partiellement par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam et portées par des plasmides conjugatifs, donc transférables (**Zalif et al., 2021**)).

II. Résistance aux antibiotiques

1. Notions de l'antibiorésistance

Différentes définitions de l'antibiorésistance ont été proposées selon le domaine dans lequel elle est étudiée.

1.1. Définition thérapeutique

Une souche est considérée comme résistante lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement supérieure à la concentration atteignable in vivo (Haskouri, 2002).

1.2. Définition épidémiologique

Une souche est dite résistante lorsqu'elle peut résister à des concentrations d'antibiotiques notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la plupart des autres souches de la même espèce (Haskouri, 2002).

1.3. Définition génétique

Une bactérie est dite résistante si elle renferme des gènes codant pour cette résistance, ce qui se traduit comme une modification dans le code génétique du microorganisme, codant ainsi un gène modifié (Haskouri, 2002).

1.4. Définition clinique

Une bactérie est dite résistante si elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, ce qui se traduit par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie. La plupart des cas d'infections se manifestent par un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc.) après environ 72 h de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique (Haskouri, 2002).

2. Types de la résistance aux antibiotiques

2.1. Résistance naturelle

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

2.2. Résistance acquise

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne que certaines souches d'une espèce spécifique (ou parfois plusieurs), elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante au sein du monde des bactéries. Elle est due à une modification du capital génétique de la

bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce.

Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transmis par un autre microorganisme (Lozniewski *et al.*, 2010).

2.2.1. Résistance chromosomique

Elle est due à une mutation spontanée, rare, stable et transmissible uniquement verticalement. L'antibiotique n'est pas un agent mutagène, il sélectionne seulement les mutants ayant développé une résistance. Elle n'intéresse qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotique à la fois (Rowe-Magnus *et al.*, 2001).

2.2.2. Résistance extra chromosomique

La résistance peut résulter de l'acquisition d'ADN étranger via des plasmides, des bactériophages ou des transposons. On parle alors de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont : la conjugaison, la transduction et la transformation (Mirabaud, 2003).

- **Conjugaison**

Dans ce phénomène, une bactérie donneuse transfère une copie d'un plasmide portant un gène de résistance à une bactérie receveuse. Elle peut être réalisée entre des bactéries de la même espèce au sein du même genre ou parfois entre des bactéries de genres différents d'où son efficacité (Peyrou, 2001).

- **Transduction**

Dans ce phénomène, un bactériophage intègre une séquence d'ADN d'une bactérie et la transfère à une autre bactérie. La transduction se produit uniquement entre les bactéries de la même espèce en raison de la particularité des bactériophages (Peyrou, 2001).

- **Transformation**

Il s'agit du résultat d'un réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries conduisant à l'émergence de nouveaux gènes de résistance. Ce processus se fait généralement entre deux bactéries de genre proche car il doit y avoir une forte similitude entre les séquences nucléotidiques afin de permettre la recombinaison (Peyrou, 2001).

Les trois mécanismes de la résistance acquise : la conjugaison, la transformation et la transduction sont représentés dans la figure 5

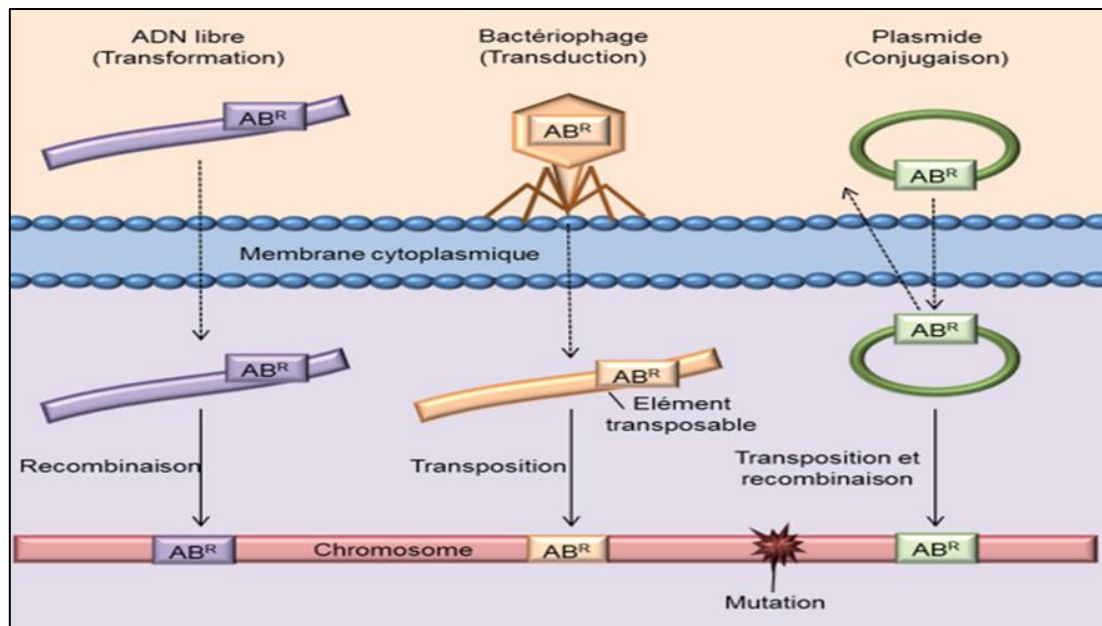


Figure 5 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques (Abdi et al., 2022)

3. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Plusieurs mécanismes de résistance aux antibiotiques ont été observés chez la famille des *Enterobacteriaceae* (Chitour et al., 2018)

- Le système d'efflux actif est efficace grâce à des protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux multi-drogues entraînent une surexpression des systèmes d'efflux constitutifs, associée ou non à une perte des porines, et conférer une multi résistance aux antibiotiques. L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études notamment chez *Klebsiella pneumoniae*.
- L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β -lactamines, soit par une modification structurale de la porine essentielle, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus courante. Plus rarement, la disparition de porine entraîne une augmentation des concentrations minimales inhibitrices de certaines β -lactamines comme cela a été observé chez certaines entérobactéries.
- La résistance au chloramphénicol chez certaines entérobactéries est une résistance plasmidique résultant de la production de l'enzyme CAT "chloramphénicol acétyltransférase".

- Des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les protéines de liaison aux pénicillines ou par l'acquisition de gènes étrangers codant pour des nouvelles protéines de liaison aux pénicillines ayant des affinités différentes pour les β -lactamines.
- La résistance au triméthoprime, antibiotique appartient à la classe de diaminopyrimidine s'effectue soit par modification quantitative de l'acide dihydrofolique causée par une mutation chromosomique ou par diminution de la perméabilité de la membrane cellulaire causée par diminution de la production des porines.
- La production de β -lactamases (enzymes qui hydrolysent les β -lactamines en ouvrant le cycle Bêta-lactame et entraînent la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique donné) est le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines. Les β -lactamases catalysent efficacement et de manière irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau B-lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et des carbapénèmes ; pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif.
- La modification de la cible réduit l'affinité du ribosome pour l'antibiotique, Ce mécanisme est utilisé pour les aminosides.

Chapitre III :
Liquides biologiques
des ponctions

1. Définition

Une ponction est une procédure qui consiste à évacuer un épanchement liquidien et son analyse. Une ponction peut donc avoir un but diagnostique ou thérapeutique. Il existe différents types de ponctions, notamment la ponction lombaire, la ponction pleurale, la ponction d'ascite, la ponction péricardique et la ponction articulaire (Glover-Bondeau, 2022).

2. Types de ponctions

2.1. Ponction lombaire

La ponction lombaire (PL) est un acte qui consiste à introduire une aiguille fine dans la colonne vertébrale afin de prélever du liquide céphalo-rachidien (LCR) dans un but diagnostique et/ou thérapeutique (Dramane, 2018).

2.1.1. Liquide céphalo-rachidien

Le liquide céphalo-rachidien (LCR) également connu sous le nom de cerebro spinal fluid (CSF) en anglais est l'une des parties du compartiment extracellulaire (Vibert, 2005). Le LCR est un liquide clair, incolore qui remplit les cavités du cerveau ainsi que l'espace sous-arachnoïdien (Schäffler, 2004).

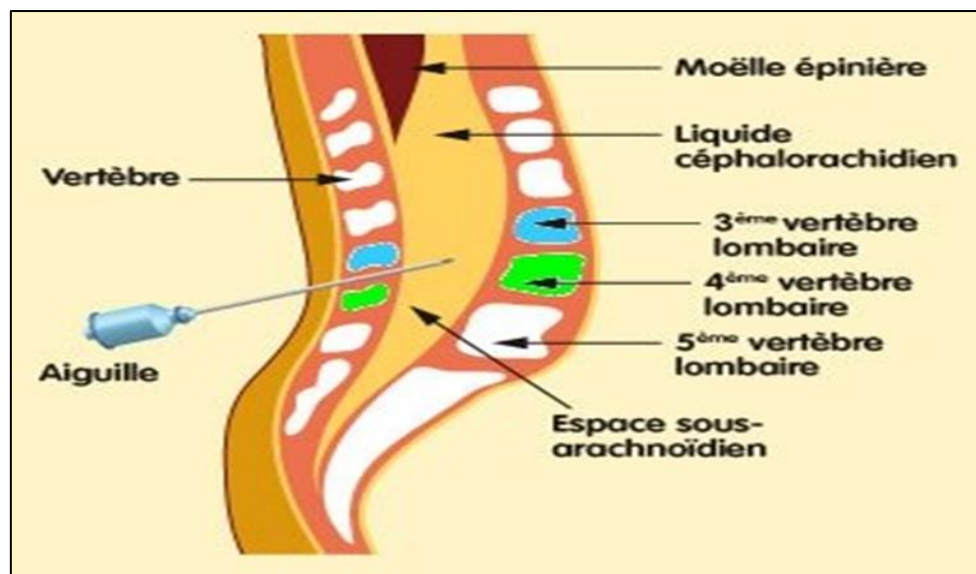


Figure 6 : Représentation schématique d'une ponction lombaire

(<https://microbiologiemedicale.fr>)

2.2. Ponction pleurale

La ponction pleurale, aussi connue sous le nom de thoracocentèse. Elle repose sur le prélèvement de liquide anormalement présent au niveau de la plèvre, l'enveloppe des poumons, en utilisant une aiguille introduite entre deux côtes (**Charline, 2020**).

2.2.1. Liquide pleural

L'épanchement pleural est une accumulation de liquide dans la cavité pleurale, c'est un processus pathologique initial, il s'agit habituellement d'une atteinte secondaire. Généralement, la cavité pleurale contient une petite quantité de liquide, qui lubrifie les feuillets de la plèvre et leur permet de se déplacer sans se frotter (**Suzanne, 2011**).

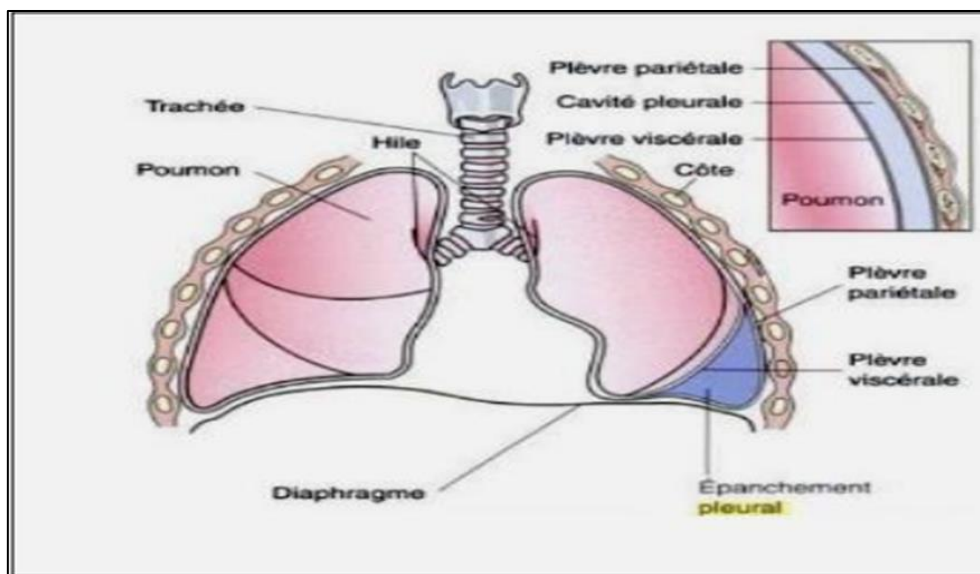


Figure 7 : Représentation schématique d'un épanchement pleural (**Suzanne, 2011**).

2.3. Ponction d'ascite

La ponction d'ascite est un geste médical qui consiste à introduire une aiguille dans la cavité péritonéale pour soustraire du liquide d'épanchement péritonéal au niveau du péritoine (**Glover-Bondeau, 2022**).

2.3.1. Liquide d'ascite

L'ascite est l'accumulation de liquide libre d'origine pathologique dans la cavité péritonéale, il se manifeste par une augmentation du volume de l'abdomen, attestée par l'augmentation du périmètre ombilical avec parfois une prise de poids, il devient cliniquement détectable lorsqu'au minimum 500 ml de liquide se sont accumulés (**Oukrid et al., 2020**).

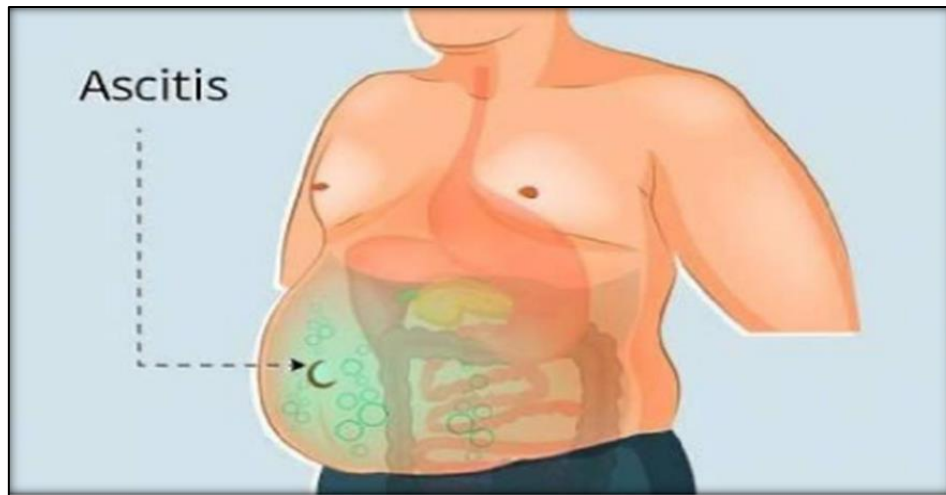


Figure 8 : Représentation schématique d'un épanchement péritonéal (Oukrid *et al.*, 2020)

2.4. Ponction péricardique

La ponction péricardique, aussi appelée péricardiocentèse, est une procédure médicale utilisée pour retirer l'excès de liquide de l'espace péricardique, qui est l'enveloppe entourant le cœur (Malek, 2023).

2.4.1. Liquide péricardique

Liquide péricardique est une accumulation anormale de liquide dans l'espace situé entre les deux feuillets du péricarde (Camille, 2023).

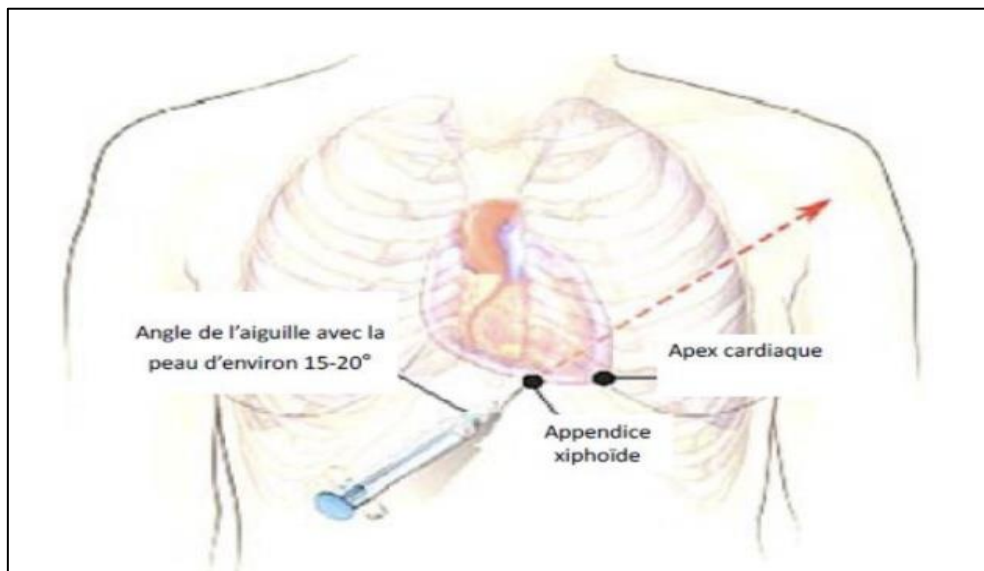


Figure 9 : Représentation schématique d'un liquide péricardique (Bouzerda, 2017)

2.5. Ponction articulaire

La ponction articulaire consiste à prélever ou à évacuer du liquide articulaire (synovial) dans une articulation. Toutes les articulations périphériques peuvent être ponctionnées (Glover-Bondeau, 2022).

2.5.1. Liquide articulaire

Le liquide articulaire également connu sous le nom de liquide synovial est normalement présent en très petite quantité dans chaque cavité articulaire. Son rôle est double : il agit comme lubrifiant en diminuant les frictions entre les surfaces articulaires au cours des mouvements et il assure la nutrition du cartilage, tissu qui ne bénéficie d'aucun apport sanguin (Amouroux, 1999).



Figure 10 : Représentation schématique d'un liquide articulaire (Gachoud, 2008).

3. Microbiologie des liquides

Toutes les bactéries doivent être recherchées mais certaines plus spécifiquement : *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* spp, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginos* (<http://coproweb.free.fr/gbearemi/sereuses.htm>).

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

1. Lieu et durée de l'étude

1.1. Centre de l'étude

Notre étude a été menée au sein de l'unité de la bactériologie de laboratoire central de l'hôpital pédiatrique El Mansourah, Constantine.

1.2. Duré et type de l'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective effectuée sur une période de deux ans (allant de Janvier 2022 jusqu'à janvier 2024) et une étude prospective réalisée sur une période de deux mois (allant de le 03 février jusqu'à le 03 avril 2024). Cette étude a porté sur les résultats d'identification et d'antibiogramme des souches bactériennes de la famille des *Enterobacteriaceae* isolées de différents liquides de ponctions

- Liquide céphalo-rachidien (Ponction lombaire).
- Liquide péritonéal (Ponction d'ascite).
- Liquide pleural (Ponction pleurale).
- Liquide péricardique (Ponction péricardique).
- Liquide articulaire (Ponction articulaire).

Chez les patients reçus au niveau du laboratoire de bactériologie générale de l'hôpital pédiatrique EL Mansourah Constantine.

1.3. Services et origines des souches

Les prélèvements ont été adressés par les différents services de l'hôpital : réanimation médicale, nurserie, les urgences, contagieux (SC), et service du grand enfant.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignement qui comporte : nom et prénom, sexe, service d'hospitalisation, nature de prélèvement, date de prélèvement.

2. Matériel

▪ Milieux de culture

Gélose Hektoen, Gélose Chapman, Gélose au Sang Cuit, Gélose au sang frais, Gélose Mueller Hinton (Annexe 2). TSI (triple sugar iron agar), mannitol mobilité, Urée Indole (uréase), Citrate de Simmons.

3. Méthodes

3.1. Analyse cyto bactériologique des liquides de ponction

Les liquides de ponctions reçus au laboratoire sont : liquide céphalo-rachidien, liquide pleural, liquide péritonéal. Le prélèvement doit être réalisé si possible avant le début de tout traitement antibiotique, dans des conditions d'asepsie strictes, après désinfection soignée de la peau pour éviter toute contamination par la flore commensale cutanéomuqueuse au niveau du site de ponction. La quantité prélevée doit être suffisante entre 2 et 5 ml.

Technique

Examen macroscopique : Après homogénéisation par une légère agitation on note la couleur : Clair, trouble, purulent, hémorragique.

Examen microscopique : L'observation au microscope présente un double intérêt : elle permet à la fois de compter les éléments cellulaires de manière quantitative et de décrire les divers éléments cellulaires de manière qualitative.

- Placer une lamelle sur la cellule de Nageotte.
- Poser la cellule sur une surface bien horizontale.
- Introduire le liquide à analyser entre lamelle et la cellule de Nageotte. à l'aide d'une pipette pasteur.
- Observation au microscope au grossissement (X40)
- Compter les leucocytes, les polynucléaires, la recherche des hématies, des levures, des cristaux et la présence ou absence de bactéries.

La lecture sur la cellule Nageotte se fait par comptage de nombre d'éléments dans une bande comme suit

- Si la bande est chargée d'éléments : on prend en considération une seule bande puis on multiplie le nombre d'éléments (x 4) et on le divise sur 5.
- Si la bande n'est pas chargée : on prend en considération le nombre de toutes les bandes puis on multiplie le nombre d'éléments (x 4) et on le divise sur 5.
- Si le nombre de leucocytes est supérieure à 30 leucocytes / mm³ on réalise la coloration au bleu de méthylène.

Culture

- Homogénéiser le prélèvement liquidien (LCR ou liquide pleural ou liquide péritonéal).
- Ensemencer LCR (2 gouttes) sur les deux milieux de culture [gélose au sang frais, gélose au sang cuit (gélose Chocolat)] et ensemencer le liquide pleural ou péritonéal (2 gouttes) sur les quatre milieux de culture [gélose au sang frais, gélose au sang cuit

(gélose Chocolat), gélose Hektoen et gélose Chapman] selon la méthode des trois quadrants.

- Incuber les milieux gélose au sang frais et gélose au sang cuit dans une étuve à CO₂ à 37°C pendant 24h. Et les milieux Hektoen et Chapman dans une étuve à O₂ à 37°C pendant 24h.

Lecture des boîtes

Culture négative : réincuber les boîtes.

Culture positive : identifier le germe et faire un antibiogramme.

Lecture des boîtes réincubées

Culture négative : absence de bactérie.

Culture positive : identifier le germe et faire un antibiogramme.

3.2. Identification bactérienne

3.2.1. Examen macroscopique

L'observation de l'aspect (collant, filamenteux...), l'odeur, la couleur, la transparence (opaques, translucides) le contour (réguliers, dentelés) la consistance des colonies et le virage des milieux de cultures sélectives utilisés (pigmentation).

3.2.2. Examen microscopique

- **Observation à l'état frais**

Par une observation entre lame et lamelle à un grossissement de x40, il est possible d'observer la forme, la mobilité et le type de regroupement cellulaire (Annexe 1).

- **Coloration simple au bleu de méthylène**

Grâce à cette méthode, vous pouvez observer les bactéries (leur forme, leur taille, leur mode de regroupement) ainsi que détecter certaines cellules sanguines telles que les polynucléaires neutrophiles et les lymphocytes (Annexe 1).

- **Coloration de Gram**

Pour déterminer la morphologie des bactéries Cocci ou bacilles, et le Gram positif ou négatif (Annexe 1)

3.3. Tests d'orientation

- **Test de l'oxydase**

Il repose sur la détection de la production de l'enzyme cytochrome oxydase, plus précisément la phénylène-diamine-oxydase, qui intervient dans les chaînes respiratoires aérobies et contient le cytochrome C.

Technique

- Cette recherche s'effectue sur un papier filtre d'oxydase prête à l'emploi ; imprégné de Ndiméthyle paraphénylène diamine oxalate.
- A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie de la bactérie à identifier est écrasée sur le papier.

Lecture

La colonie prend une teinte rose ou violette, le germe possède une oxydase : le test est positif.

La colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase : le test est négatif.

- **Test de catalase**

Il repose sur la recherche d'enzyme qui décompose l'eau oxygénée en eau et en oxygène gazeux.

Technique

- Sur une lame propre, déposer quelques gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes.
- Ajouter l'inoculum bactérien à l'aide d'une pipette de pasteur.

Lecture

L'apparition des bulles d'air (dégagement gazeux de dioxygène) : le test est positif.

L'absence des bulles d'air : le test est négatif.

3.4. Identification par les Galeries biochimiques classiques

La méthode de la galerie classique implique la réalisation de tests biochimiques pour identifier les bactéries en étudiant leur métabolisme enzymatique.

Technique

- Préparer la suspension bactérienne (eau distillée stérile + une seule colonie).
- Inoculer sur les milieux TSI, Citrate de Simmons, Mannitol, Urée-indole.
- Incuber pendant 24 heures sur 37°C.

3.5. Antibiogramme

Technique

- Deux ou trois boîtes contenant du milieu Mueller Hinton sontensemencées avec la suspension bactérienne par écouvillonnage selon la recommandation CLSI.
- Ensuite des disques d'antibiotiques (Annexe 04) sont placés à la surface de la gélose.
- Laisser diffuser les disques après leur application à température ambiante pendant 15 minutes, puis incuber dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

- Après l'incubation on mesure les diamètres critiques de chaque antibiotique et interprété les résultats en trois catégorie : S = Sensible, R = Résistant, et I = Intermédiaire.

Résultats et discussion

Résultats

I. Résultats de la partie pratique

Dans notre étude, un total de 20 souches d'*Enterobacteriaceae* ont été isolées dont 4 souches durant l'étude prospective et 16 souches de l'étude rétrospective.

1. Identification bactérienne

1.1. Aspect macroscopique

Aspect des colonies : A partir de différents ponctions, l'isolement des souches sur les milieux : Gélose chocolat, Gélose au sang frais, Gélose Hektoen, Gélose Chapman, qui ont permis d'examiner la morphologie des colonies.

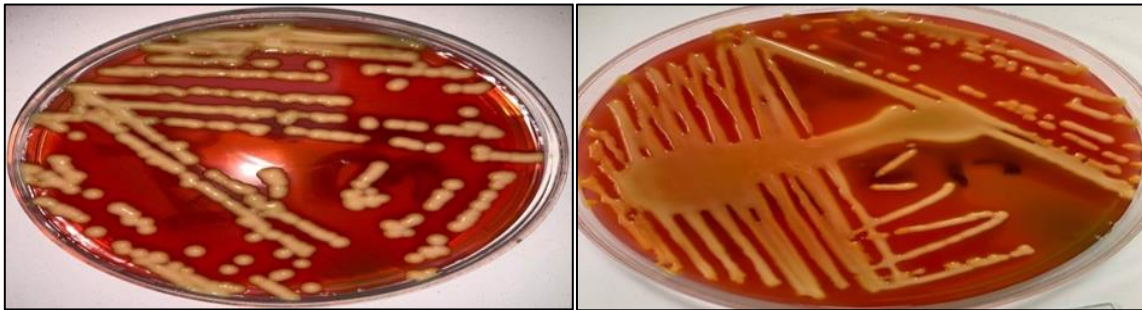


Figure 11 : Aspect macroscopique des Colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur milieu Gélose Hektoen

1.2. Aspect microscopique

1.2.1. Examen à l'état frais

D'après l'observation des cellules à l'état frais, il apparaît que certaines souches sont mobiles tandis que d'autres sont immobiles.

1.2.2. Examen après coloration de Gram

Après la coloration de Gram, nous avons observé que les souches étudiées étaient Gram négatif et avaient une morphologie en bacilles ou en coccobacilles. Ces souches peuvent être isolées, se présenter en paires ou regroupées en amas.



Figure 12 : Observation microscopique de *Klebsiella pneumoniae* après coloration de Gram

1.3. Tests d'orientation

- **Test d'oxydase**

Après avoir effectué le test oxydase, toutes les souches d'*Enterobacteriaceae* que nous avons étudiées ont présenté un caractère oxydase négative.

- **Test de catalase**

Après avoir effectué le test catalase, toutes les souches d'entérobactéries que nous avons étudiées ont présenté un caractère catalase positive.

1.4. Galerie biochimique classique

Tableau 5 : Caractères biochimiques des souches d'entérobactéries isolées

	Lactose	Citrate	Urée	Indole	GAZ	H ₂ S	Mobile	Mannitol
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	+	+	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+/-	+	-	-	+
<i>Salmonella</i> spp	-	+/-	-	-	+/-	+	+	+
<i>Enterobacter</i> spp	+	+	-	-	-	-	+	+

(+) : Résultat positif ; (-) : Résultat négatif ; (+/-) : Variable

Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* sont présentés dans la figure 4



Figure 13 : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli* par la galerie biochimique classique

Les caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae* sont présentés dans la figure 5



Figure 14 : Caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae* par la galerie biochimique classique

1.5. Détermination du profil d'antibiorésistance

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton selon la recommandation CLSI en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec les diamètres critiques. Les résultats obtenus ont permis de classer les souches étudiées en fonction de leurs valeurs en trois catégories : sensible (S), résistante (R), intermédiaire (I).

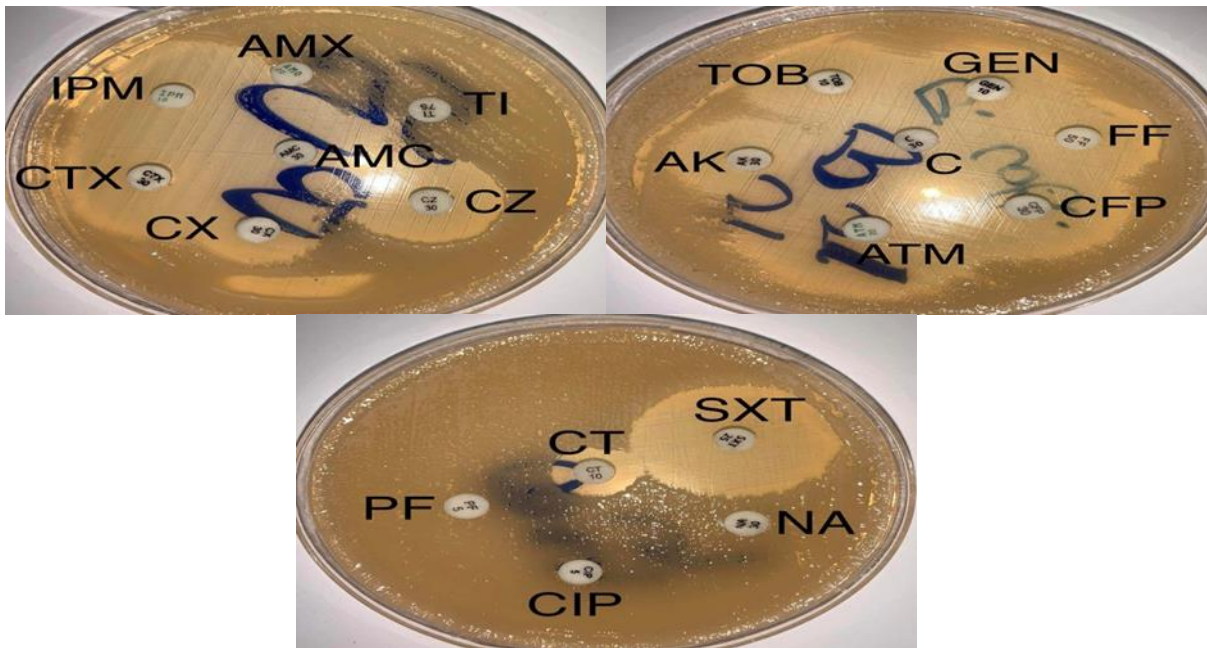


Figure 15 : L'antibiogramme d'une souche d'*Escherichia coli*

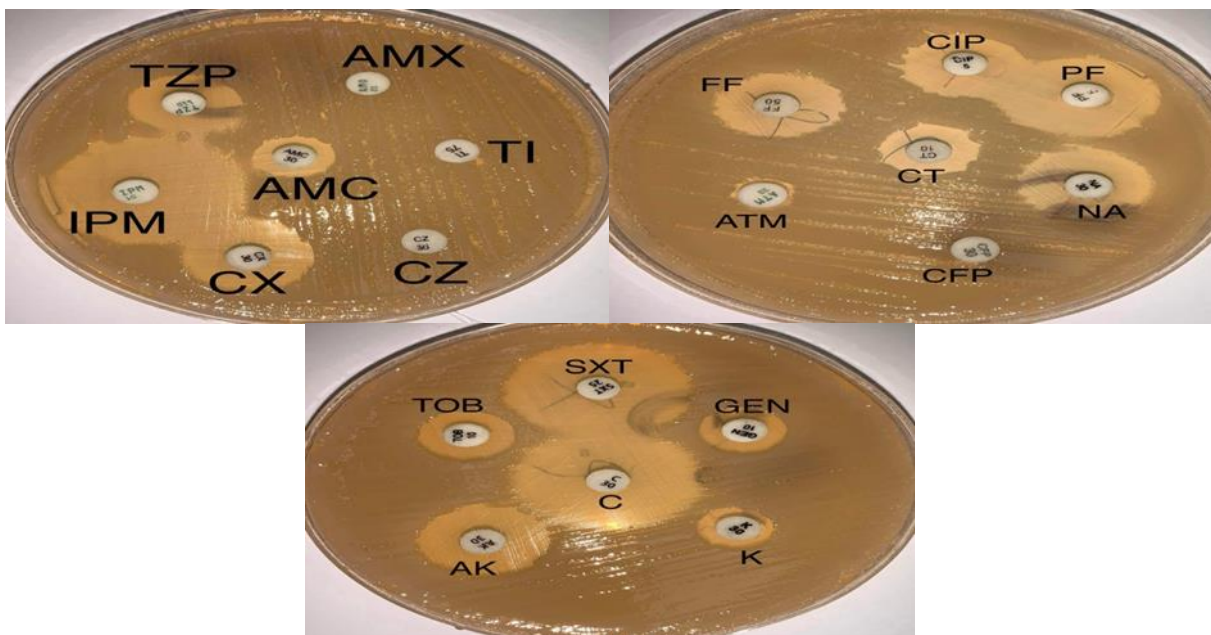


Figure 16 : L'antibiogramme d'une souche de *Klebsiella pneumoniae*

II. Résultats de l'étude statistique

1. Répartition des données

1.1. Répartition des souches isolées selon les services

Comme l'indique la figure 17 la distribution des souches d'entérobactéries identifiées est variable selon les services. On constate que le service le plus infecté par les entérobactéries est le service de réanimation médicale avec 70% suivi par le service nurserie

avec un taux de 15% suivi par le service contagieux (SC) avec un taux de 10% tant dis que le taux le plus bas de 5% a été trouvé dans les urgences.

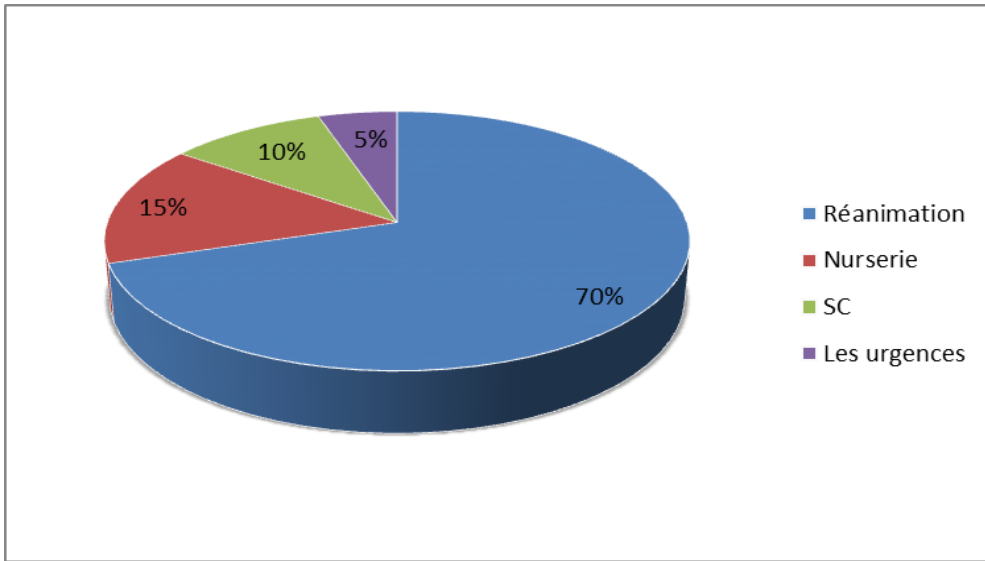


Figure 17 : Répartition des souches isolées selon le service (n=20)

1.2. Répartition des données selon le sexe

Nous avons noté une prédominance du sexe masculin avec un pourcentage de 60% contre celui du sexe féminin 40 %, avec un sexe ratio (H/F) : 1,5.

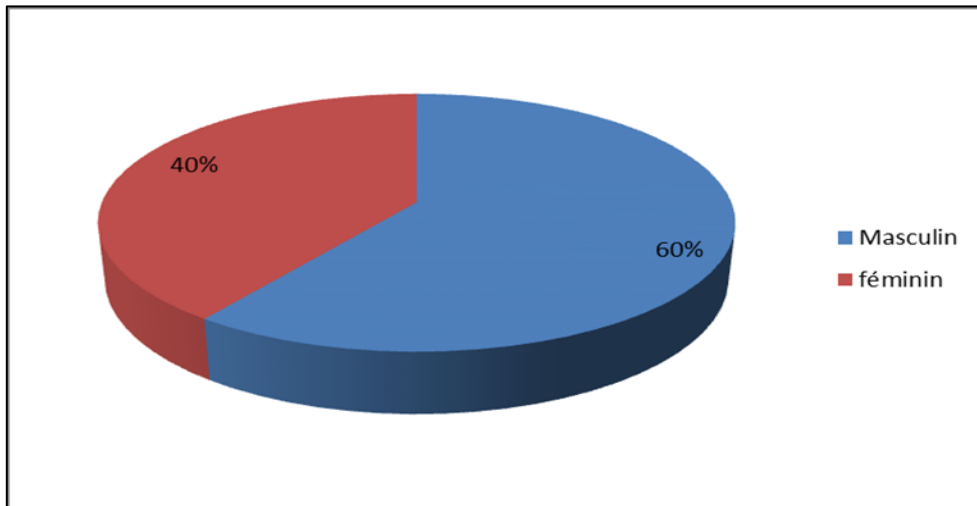


Figure 18 : Répartition des souches isolées selon le sexe (n=20)

1.3. Répartition des souches isolées selon la nature des ponctions

La figure 19 montre que la majorité de souches d'*Enterobacteriaceae* proviennent des ponctions d'ascite avec un taux le plus élevée 60% suivi les ponctions lombaires avec un taux

30% et suivi les ponctions pleurale 10%, Alors qu'il n'y avait pas des ponctions péricardiques et des ponctions articulaires.

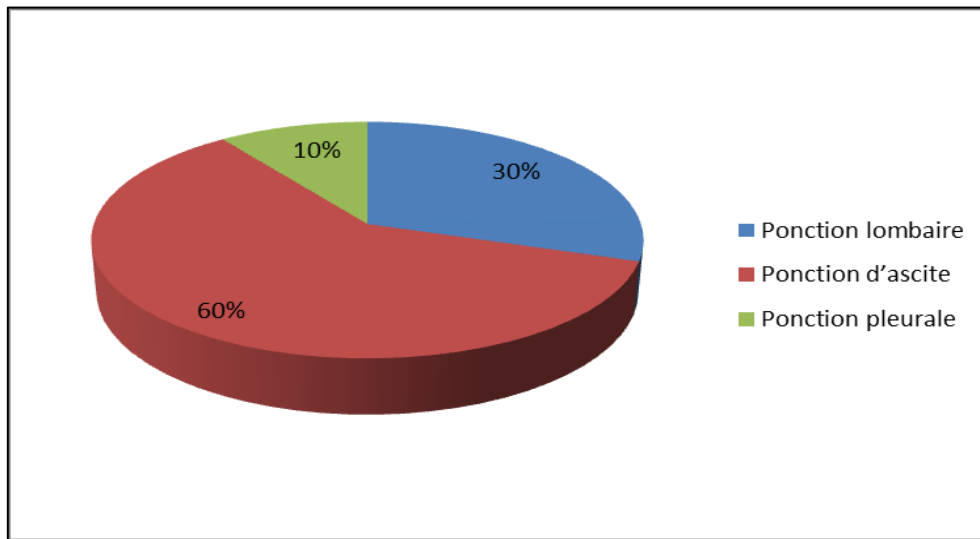


Figure 19 : Répartition des souches isolées selon la nature de ponction (n=20)

1.4. Répartition des souches isolées selon l'espèce bactérienne

La figure 20 révèle que *Escherichia coli* occupe la première place avec 55%, en deuxième position on retrouve *Klebsiella pneumoniae* avec 35%, en troisième et quatrième position en retrouve *Salmonella spp* et *Enterobacter spp* avec 5%.

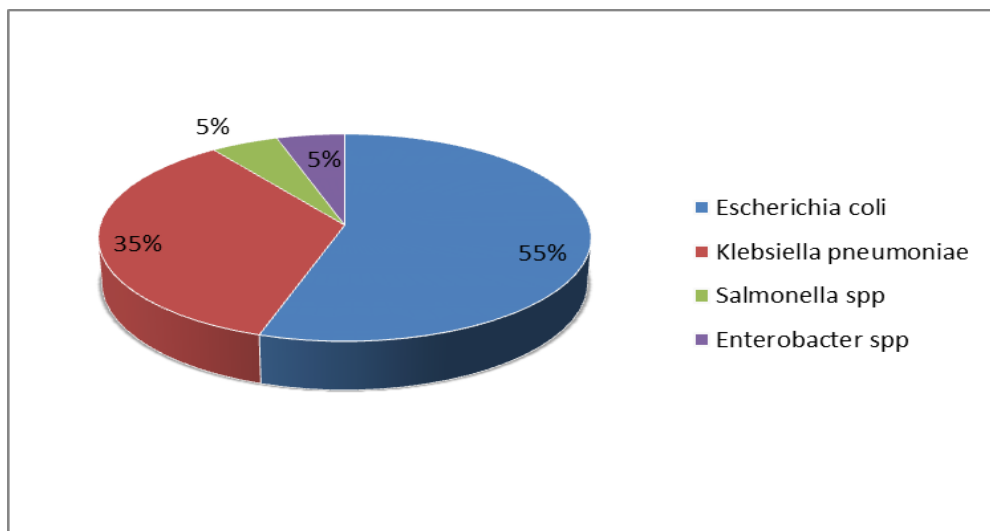


Figure 20 : Répartition des souches isolées selon l'espèce bactérienne (n=20)

2. Profil de résistance et de sensibilité des entérobactéries isolées aux antibiotiques

Les 20 souches d'entérobactéries ont été testées vis-à-vis de 18 antibiotiques, durant la période d'étude. Ces molécules appartiennent à 03 familles : β -lactamines (9 molécules),

aminosides (3 molécules), quinolones/fluoroquinolones (2 molécules). Plus 4 autres antibiotiques ne faisant pas partie de ces familles (Colistine, Triméthoprime-sulfaméthoxazole, Fosfomycine et Chloramphénicol).

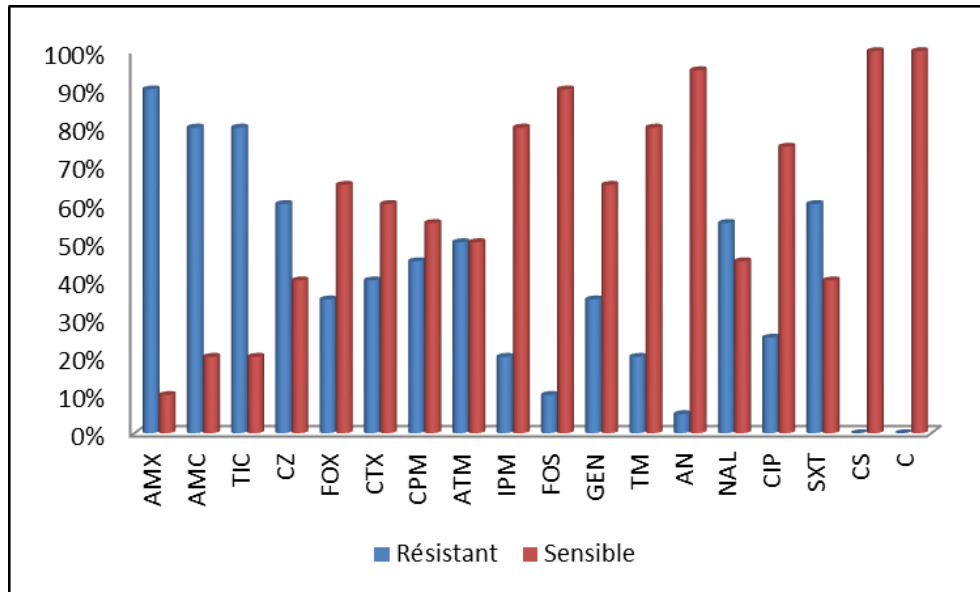


Figure 121 : Profil global de résistance des souches isolées (n=20)

Les résultats de la figure 21 montrent que : les entérobactéries isolées présentent une résistance élevée vis-à-vis de l'Amoxicilline, l'Amoxicilline + l'acide clavulanique, la Ticarcilline, la Céfazoline et la Sulfaméthoxazole+ triméthoprime avec des pourcentages de 90%, 80%, 80%, 60% et 60% respectivement.

Une résistance moyenne pour l'Acide Nalidixique (55%), l'Aztreonam (50%) et la Céfipime (45%), la Céfotaxime (40%).

Une faible résistance a été observée pour la Céfoxitine (35%), la Gentamycine (35%), la Ciprofloxacine (25%), l'Imipénème (20%), la Torbramycine (20%), la Fosfomycine (10%) et l'Amikacine (5%).

Alors qu'il n'y avait pas une résistance à la Colistine et à la Chloramphénicol.

2.1. Profil de résistance et de sensibilité d'*Escherichia coli*

Au cours de l'étude rétrospective et prospective, un total de 11 souches d'*Escherichia coli* a été isolé. Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans la figure suivante

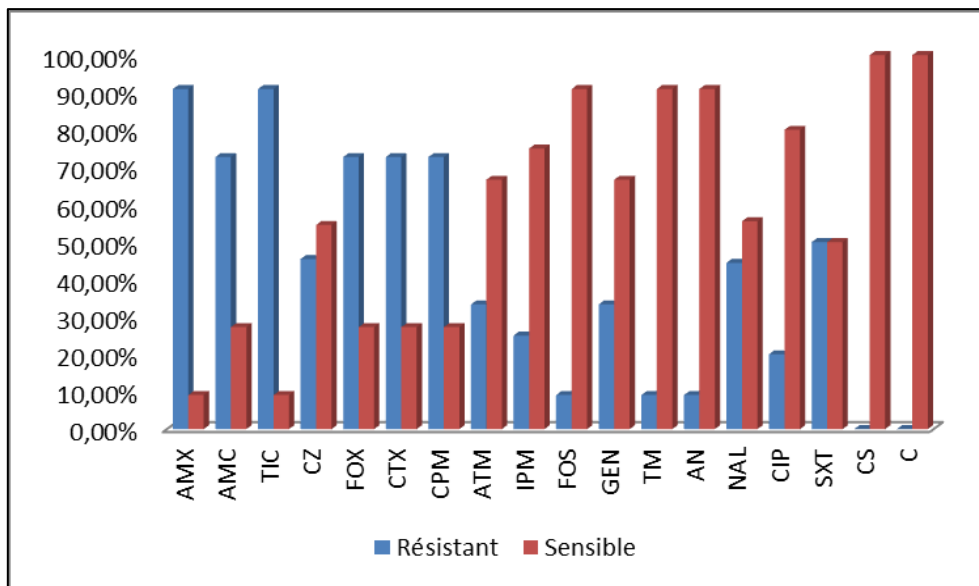


Figure 24 : Taux de résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

Les pourcentages de résistances sont très élevés pour l'Amoxicilline et la Ticarcilline avec un taux de 90,91%, l'Amoxicilline + l'acide clavulanique, la Céfoxitine, la Céfotaxime et la Céfipime avec un taux de 72,73%.

En revanche, les souches restent très sensibles à la Fosfomycine et la Torbramycine et l'Amikacine avec un taux de 90,91%, suivi par la Ciprofloxacine avec un taux de 80%, puis l'Imipénème à 75%, l'Aztreonam et la Gentamycine à 66,67%, l'Acide Nalidixique à 55,56%, et la Céfazoline à 54,55% et enfin la Sulfaméthoxazole + triméthoprime à 50%.

Alors qu'il n'y avait pas une résistance à la Colistine et à la Chloramphénicol.

2.2. Profil de résistance et de sensibilité de *Klebsiella pneumoniae*

Au cours de l'étude rétrospective et prospective, un total de 07 souches de *Klebsiella pneumoniae* a été isolé. Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans la figure suivante

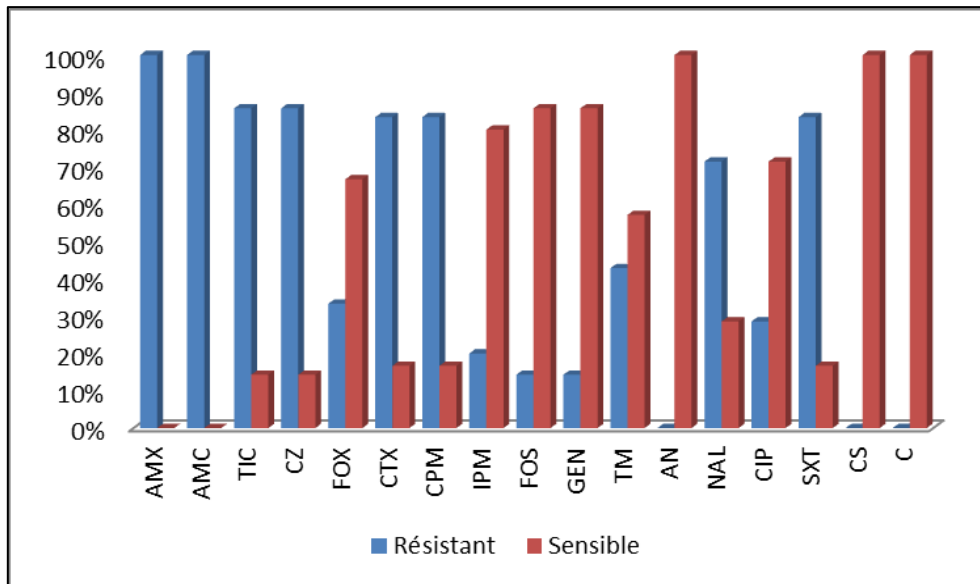


Figure 23 : Taux de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

Un taux de résistance de 100% vis-à-vis les antibiotiques suivants : l'Amoxicilline et l'Amoxicilline + Acide clavulanique, 85,71% à la Ticarcilline, la Céfazoline, 83,33% à la Céfotaxime, la Céfépime et au Sulfaméthoxazole + triméthoprime et 71,43% à l'Acide Nalidixique, 42,86% à la Torbramycine, 33,33% pour la Céfoxitine. Alors qu'il y avait une faible résistance aux restes des antibiotiques testés.

2.3. Profil de résistance et de sensibilité de *Salmonella* spp

Au cours de l'étude rétrospective et prospective, une seule souche de *Salmonella* spp a été isolée.

Elle a présenté une résistance à l'Acide Nalidixique et une sensibilité totale aux autres antibiotiques testés.

2.4. Profil de résistance et de sensibilité d'*Enterobacter* spp

Au cours de l'étude rétrospective et prospective, une seule souche d'*Enterobacter* spp a été isolée.

Elle a présenté une résistance à l'Amoxicilline, l'Amoxicilline+ Acide Clavulanique, la Céfazoline, la Céfoxitine et à la Fosfomycine et une sensibilité totale aux autres antibiotiques testés.

2.5. Production de BLSE

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

Parmi les 20 souches étudiées, 08 sont productrices de BLSE, dont *E. coli* (04), *Klebsiella pneumoniae* (04).

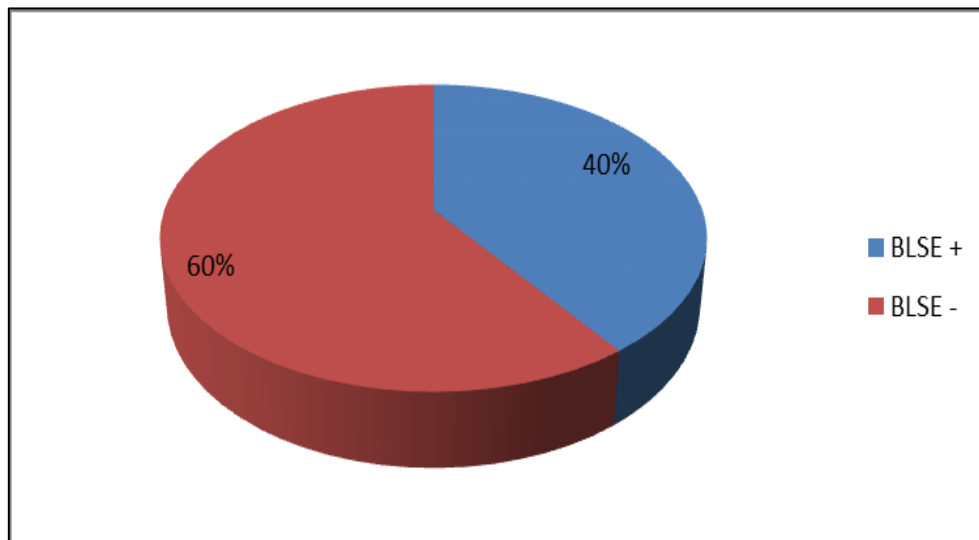


Figure 24 : Production des β -lactamases à spectre élargi (n=20)

Discussion

1. Discussion des résultats statistiques

Les résultats de notre étude montrent que les services sont répartis comme suit : le service réanimation représente le pourcentage le plus élevé de souches (70%) suivi par le service nurserie (15%) puis le service des maladies contagieuses (10%) et les urgences avec un pourcentage de 5% par contre l'étude faite à l'hôpital d'El khroub a démontré que les malades externes sont le plus touché par rapport aux autres (55%), suivie par les services de la médecine femme et homme (14%), ensuite les services de pédiatrie, l'urgence et la médecine interne (4%), suivie par le service de chirurgie homme (3%), puis le service de la chirurgie générale (1%). Enfin en dernier position le service de la chirurgie femme (1%) (**Maddi et al., 2022**).

D'après les résultats, les entérobactéries touchent plus la population masculine avec une fréquence de 60% par rapport à la population féminine qui ne représente que 40%. Ceci correspond à un sexe ratio (H/F) : 1,5. Ces résultats sont expliqués par la prédominance des hommes au niveau du l'hôpital et sont concordants avec ceux de (**Bouzeraa et al., 2018**).

Nos résultats montrent la prédominance d'*E. coli* (55%) suivi par *K. pneumoniae* (35%) suivi par *Salmonella* spp et *Enterobacter* spp qui présentent une égalité de 5%. Ces résultats obtenus ne concourent pas avec les résultats rapportés par Fatnassi qui a trouvé prédominance de *K. pneumoniae* de 40% suivie par *E. coli* avec une fréquence de (38%) et *Enterobacter* spp (22%) (**Fatnassi, 2020**).

Les entérobactéries sont un groupe de bactéries fréquemment isolées dans les laboratoires de bactériologie, *E. coli* et *Klebsiella* spp étant les espèces revenant le plus souvent (**Kebaili et al., 2019**).

2. Antibiorésistance

Les différents taux de sensibilité des espèces bactériennes isolées à partir des liquides lombaires et pleuraux testés et d'ascites vis-à-vis des différentes molécules d'antibiotiques testées, dépend de la pression de sélection liée à l'antibiothérapie administrée dans chaque structure hospitalière, et de l'existence même dans l'environnement d'un support génétique permettant la sélection des souches résistantes (**El-Khiyat, 2017**).

Les taux enregistrés pour *E. coli* sont très élevés vis à vis Amoxicilline et la Ticarcilline (90,91%), Amoxicilline + acide clavulanique (72,73%). Une moyenne résistance pour la Sulfamethoxazole+ trimthoprime (50%), la Céfazoline 45,45% et l'Acide Nalidixique à

44,44%. Et une faible résistance a été observée pour l'Aztreonam et la Gentamycine à 33,33%, suivi par l'Imipénème à 25% puis la Ciprofloxacine avec un taux de 20% et enfin la Fosfomycine et la Torbramycine et l'Amikacine à 9,09%. Alors qu'il n'y avait pas une résistance à la Colistine et à la Chloramphénicol,

En Algérie, Bouzenoune a enregistré un taux plus élevé de 50% de résistance à l'amoxicilline + l'acide clavulanique et l'Amoxicilline, 43% de résistance à Sulfaméthoxazole + triméthoprim et 12% à l'Acide Nalidixique (**Bouzenoune et al., 2009**).

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

En France, une résistance totale des souches d'*E. coli* à l'Amoxicilline a été notée par **Jellimann en 2002**.

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

D'après l'analyse de nos résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae* on a noté une résistance de haut niveau vis-à-vis l'Amoxicilline et l'Amoxicilline + Acide clavulanique (100%), et 85,71% à la Ticarcilline, la Céfazoline, 83,33% à la Céfoxitine, la Céfépime et au Sulfaméthoxazole + triméthoprim et 71,43% à l'Acide Nalidixique. Et une faible résistance a été observée pour la Torbramycine (42,86%), la Céfoxitine (33,33%), la Ciprofloxacine (28,57%), l'Imipénème (20%), la Fosfomycine et la Gentamycine (14,29%). Alors qu'il n'y avait pas une résistance à la Colistine et à la Chloramphénicol.

En Algérie, la résistance de *K. pneumoniae* est élevée 100% (résistance naturelle) aux β -lactamines : l'amoxicilline, la ticarcilline. L'amoxicilline + l'acide clavulanique (60%), Concernant la céfazoline et la céfoxitine présentent des taux de résistance respectivement de 50% et de 36,66%. Mais la céfoxitine présente une bonne activité sur les souches de *Klebsiella pneumoniae*. 23,33% pour l'acide nalidixique et 43,33% pour la sulfaméthoxazole + triméthoprim (**Nouri et al., 2015**).

En mali, la résistance de *K. pneumoniae* est 100% à l'amoxicilline et la Ticarcilline. L'amoxicilline + acide clavulanique présente un taux de résistance de 60,42%. La céfoxitine

présente un taux de résistance à 52,78%, et 80,85% pour l'acide nalidixique, 63,83% pour la sulfamethaxazole + triméthoprim (**Mamadou, 2020**).

En Sénégal un taux de sensibilité a été observé pour le céfotaxime à 95, 20% (**Seck, 2005**).

En France, la résistance de *K. pneumoniae* pour la Torbramycine est 45% en 2004 et en 2006 (48%) (**Benradjeb et al., 2007**).

Une souche de *Salmonella* spp à était également isolée, et l'antibiogramme effectué a montré que cette souche est résistante à l'Acide Nalidixique et elle a présenté une sensibilité à la famille de bêta-lactamine (l'amoxicilline, l'amoxicillines + l'acide clavulanique, la céfazoline, la céfoxitine, la céfotaxime et l'imipénème), La Fosfomicyne, la Phénicol (Chloramphénicol), les Polypeptides (Colistine), et les Aminosides.

D'après les résultats de Balahouane, la souche de *Salmonella* spp est résistante à l'amoxicilline et à la fosfomicine, elle a présenté une sensibilité quasi-totale aux autres antibiotiques (**Balahouane, 2013**).

Les résultats de l'étude de la résistance des espèces d'*Enterobacter* spp aux antibiotiques présente une résistance aux les bêta-lactamines (l'amoxicillines, l'amoxicillines + l'acide clavulanique, la cefazoline, la cefoxitine), et la fosfomicine. Et une sensibilité aux la ticarcilline et les carbapénèmes (l'imipénème), et les céphalosporines de troisième génération (la céfotaxime), les céphalosporines de quatrième génération (la céfépime) et la monobactame (l'aztréonam). La souche sensible aux les aminosides (la gentamicine, la kanamycine, la torbramycine, l'amikacine).

D'après les résultats d'Abdi la résistantes des espèces d'*Enterobacter* aux antibiotiques présente une résistance naturelle aux les bêta-lactamine (l'amoxicillines, l'amoxicillines + l'acide clavulanique, la cefazoline, la cefotaxime) et une sensibilité totale aux l'amikacine et l'imipénème (**Abdi et al., 2022**).

Selon les travaux réalisés par Khennouchi, étudié de la sensibilité des 77 souches isolées ont indiqué que toutes les souches d'*Enterobacter* spp étaient résistantes à l'amoxicilline + l'acide clavulanique. Parallèlement toutes les souches étaient sensibles à l'imipénème. Cependant, les souches isolées de l'est Algérien avait un taux élevé de résistance aux bêta-lactamines (sauf les carbapénèmes) qui est significativement supérieur à celui des souches isolées à Marseille, incluant la céfotaxime, et la céfépime et l'aztréonam (**Khennouchi, 2016**).

Concernant les quinolones, la souche d'*Enterobacter* spp sensible pour la ciprofloxacine, ce résultat est différent à l'étude d'Abdi qui trouve que la souche résistance pour ciprofloxacine (**Abdi et al., 2022**).

A partir des résultats obtenus, la colistine est sensible ce qui est confirmé par l'étude d'Abdi qui trouve que cet antibiotiques présente une excellente activité sur les souches avec un taux de 100% de sensibilité (**Abdi et al., 2022**).

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

Dans notre étude 40% des souches isolées sont productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE), cette valeur se rapproche de celle obtenue par Souna à l'hôpital de Sidi Bel Abbes (37,1%) (**Souna, 2011**), et en Egypte (38.5%) mais supérieure à celle rapportée en France (5.2%), en Allemagne (2.6%) et en Hollande (2%) (**Bouchillon et al., 2004**).

Conclusion

Conclusion

Les entérobactéries constituent une part importante des bactéries isolées lors du diagnostic bactériologique des infections humaines. Leur prédominance dans l'intestin, leur rapidité de multiplication et leur fréquente résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus impliquées en pathologie infectieuse humaine et constitue une menace importante pour la santé publique.

L'infection des différents liquides sont des situations pathologiques qui imposent un examen cytologique permet de déterminer la prédominance lymphocytaire ou des polynucléaires, un examen bactériologique permet de déterminer les bactéries mise en cause, ces données orientent le clinicien dans le choix d'une antibiothérapie de premier choix pour l'infection.

Les résultats obtenus durant notre étude montrent la présence de 20 entérobactéries au niveau des différents liquides isolés au niveau de l'hôpital pédiatrique El Mansourah, Constantine.

Notre étude a montré que les infections à *Enterobacteriaceae* sont majoritairement contractées au service de réanimation et que les masculins sont les plus touchés.

Le profil bactériologique des liquides été dominé par *Escherichia coli* qui représentent (55%) de total des isolas suivi par *Klebsiella pneumoniae* (35%), *Salmonella* spp (5%) et *Enterobacter* spp (5%).

Les résultats de l'antibiogramme des entérobactéries isolées des liquides ont présenté un taux de résistance élevé pour l'Amoxicilline (90%), l'Amoxicilline + l'acide clavulanique (80%), la Ticarcilline 80%), la Céfazoline (60%) et la Sulfamethoxazole + triméthoprime (60%). Et un taux de résistance moyenne pour l'Acide Nalidixique (55%), l'Aztreonam (50%) et la Céfipime (45%), la Céfotaxime (40%). Et un taux de résistance faible résistance pour la Céfoxitine (35%), la Gentamycine (35%), la Ciprofloxacine (25%), l'Imipénème (20%), la Torbramycine (20%), la Fosfomycine (10%) et l'Amikacine (5%). Toutefois, aucune résistance à la Colistine et à la Chloramphénicol n'a été observée dont la sensibilité est de 100%.

Les résultats de l'étude du profil de résistance ont permis de constater une résistance élevée d'*Eenterobacteriaceae* vis-à-vis les antibiotiques testés avec 8 souches productrices de BLSE.

Ces résultats montrent que l'infection des liquides doit être prise en charge car elle traduit le plus souvent une affection potentiellement grave.

En perspective pour compléter notre étude il faut

- Prendre en compte un nombre plus élevé de prélèvements afin d'isoler un plus grand nombre de souches.
- L'utilisation correcte des antibiotiques joue un rôle crucial pour appliquer un traitement efficace et réduit les problèmes de la résistance.
- Faire une étude comparative de la résistance aux antibiotiques.
- Mettre en place un réseau de surveillance des bactéries résistantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

Abdi G. ; Benabderrahmane R. et Benamara N. (2022). Isolement et Identification d'*Enterobacter* sp et l'étude de la résistance aux antibiotiques. Mémoire de master : Microbiologie. Constantine : Université Constantine 1. p.27-108.

Adjan N. (2005). Les entérobactéries sécrétrices de Béta-lactamines à spectre élargi. Thèse de doctorat en pharmacie. Dakar: Université Cheikh de Dakar. p.23.

Akel Z. 2014. Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases isolées au CHU IBN SINA-RABAT [Thèse Doctorat]. Rabat : Université Mohamed V de Rabat.

Amouroux J. (1999). Examen cytologique du liquide articulaire. Devsante org. [En ligne]. <https://devsante.org/articles/examen-cytologique>. (Consultée le 09/05/2024).

Anju V.T. ; Siddardha B. et Dyavaiah M. (2020). *Enterobacter* infections and antimicrobial Drug Resistance.

Avril L. ; Darbernat H. ; Denis F. et Monteil H. (2000). Bactériologie clinique 3ème génération. Paris: Ellipses édition marketing.

-B-

Balahouane N. (2013). Étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à partir de divers prélèvements pathologiques au niveau de l'hôpital de Koléa. [Mémoire de master]. Blida : Université Saad Dahlab de Blida. P.56.

Benradjeb S. et Boutiba benboubaker I. (2007). L'antibio-Résistance en tunisie LART. [En ligne]. <https://www.infectiologie.org.tn/pdf>. (Consultée le 31/05/2024).

Bodering A. ; Ndoutamia G. ; Ngandolo B.N. ; et Ngakou A. (2017). Utilisation des antibiotiques et profil de résistance des souches de *Salmonella* sp et *Escherichia coli* isolées des exploitations avicoles des villes de Djaména et Doba au Tchad. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 11(4): 1669-16843.

Bonnet R. (2012). Béta-lactamines et entérobactéries. Paris: ESKA16.

Bouaziz A. (2019). Etude phénotypique et moléculaire de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des fientes de la cigogne blanche (*Ciconia ciconia*) de la commune d'El Madher wilaya de Batna. [Thèse Doctorat]. Batna : Université Batna 2.

Bouchillon S.K. ; Johnson B.M. et Hoban D.J. (2004). Determining incidence of extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*, Vancomycin resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 19 countries: The PEARLS study 2001-2002. *Int. J. Antimicrob. Agents*; 24: p.124.

Bouzeraa A. ; Berrihil H. (2018). Bactériologie des Entérobactéries isolées au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine. [Mémoire de master]. Constantine : Université Constantine 1. p.4.

Bouzerda A. ; Bouzelmat H. ; Bendriss L. et Khatouri A. (2017). PRISE EN CHARGE D'UNE TAMPONNADE PERICARDIQUE. *Journal Marocain des Sciences Médicales*, Vol 21 ; N°2. P.71.

Brahmia R. ; Medareg narou S. et Tolba I. (2016). La résistance des bactéries aux antibiotiques dans l'hôpital d'Oued Zenati. Mémoire de master en microbiologie de l'environnement, Université Guelma, Oued Zenati.

-C-

Camille P. (2023). Épanchement péricardique : définition, causes, traitements. Passe port santé. [En ligne]. <https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Symptomes/Fiche.aspx?doc=epanchement>. (Consultée le 09/05/2024).

Charline D. (2020). Ponction pleurale. Santé sur le net. [En ligne]. <https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/examens-medicaux/>. (Consultée le 15/03/2024).

Chitour R. ; Souilah N. (2018). Étude de l'antibiorésistance et de la tolérance aux métaux lourds des entérobactéries et des staphylocoques. Mémoire de master : Microbiologie. Guelma : Université 08 mai 1945 Guelma.

-D-

Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Paris. P.247- 252.

Delmee M. (2004). Microbiologie médicale. Louvain: Université Catholique. P.28.

Denis F. ; Ploy MC. ; Martin C. ; Bingen E. et Quentin R. (2007). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Masson. P.316.

Diagnostic des méningites au laboratoire. (Sans date). [Photo] In : Microbiologie médicale. Disponible sur : <https://microbiologiemedicale.fr/diagnostic-meningites>. (Consultée le 09/05/2024).

Djoher S. (2013). Etude l'écologie bactérienne chez nouveau-né à l'unité de néonatalogie dans l'établissement hospitalisé E.H.S. Mère et enfant de Tlemcen. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid.

Dramane C. (2018). Complications de la ponction lombaire dans le département de pédiatrie du CHU Gabriel Touré. [Thèse Doctorat]. MALI : Université des Sciences, des Techniques etdes Technologies de Bamako.

-E-

Ebongue O. ; Dongmo M. ; Jean P et al. (2015). Évolution de la résistance aux antibiotiques desentérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. PanAfrican Médicale journal.

El-Khiyat. M. (2017). Bactériémies Néonatales : Profil Bactériologique et Antibio-Résistance. Thèse de diplôme médicale en Biologie médicale, Université Sidi mohammed Ben Abdellah, Faculté de médecine et de pharmacie de Fes. Maroc. P.57.

Enterobacteriaceae. (Sans date). [Photo] In : Wikipédia. Disponible sur <https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterobacteriaceae#:~:text=%C2%>. (Consultée le 19/03/2024).

Examens bactériologiques des liquides de ponction. (Sans date). [En ligne]. <http://coproweb.free.fr/gbearemi/sereuses.htm>. (Consultée le 13/05/2024).

-F-

Fatnassi A. (2020). L'étude de la résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées de différents prélèvements pathologiques à l'hôpital El-Hakim Saâdan-Biskra. [Mémoire de master].Biskra : Université Mohamed Khider de Biskra.

Freney J. ; Renaud F. ; Leclercq R. et Riegel P. (2000). Précis de bactériologie clinique. Paris: Editions EKA.

-G-

Gachoud D. ; Guinod-Bourquin S. ; Monti M. et Dudler J. (2008). Ponctions et infiltrations articulaires. [Image]. <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2008/revue-medicale-suisse-177>. (Consultée le 08/05/2024).

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. Thèse de Doctorat : Biologie fonctionnelle et Moléculaire. Abidjan. Cote d'ivoire : Université Félix Houphouët biogny, p218.

Glover-Bondeau A.S, (17/03/2022). Ponction : définition, causes et déroulement. Femme actuelle. [En ligne]. <https://www.femmeactuelle.fr/sante/actes-medicaux/ponction-definition->. (Consultée le 15/03/2024).

Grimont F. ; Grimont P-A-D. (2006) .The Genus *Enterobacter* in : Procaryotes.Springer, New York, p.197.

-H-

Haskouri S. (2002). Résistance aux antibiotiques : mécanismes et évolution. Thèse doctorat : pharmacie. Rabat : université mohammed V faculté de médecine et de pharmacie de rabat.

-J-

Jellimann J.M. (2002). Les sépticémies nosocomiales en neonatologi : influence de l'antibiothérapie et vers un bon usage des antibiotiques. Paris: Université Henri Poincaré, Nancy 1.

-K-

Kassama M. et Hamaidi S. (2013). Evaluation de la résistance aux antibiotiques dessouches d'entérobactéries isolées à l'établissement hospitalier spécialisé de Constantine. [Mémoire de master]. Constantine : Université Constantine 1. p.62.

Kebaili A. et Azmani I. (2019). Anitibiorésistance des entérobactéries d'origine aviaire. [Mémoire de master]. Ain-Temouchent : Universitaire Belhadj Bouchaib Ain-Temouchent. P.33-42.

Khennouchi N. (2016). Evaluation de l'antibiorésistance du genre *Enterobacter* aux antibiotiques. Thèse de doctorat : microbiologie. Annaba : Université Badji Mokhtar .p.103-104.

-L-

Larpent J.P. (1997). Microbiologie alimentaire. Technique de laboratoire. Paris. P.133.

Lozniewski A. et Rabaud C. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. Nancy : CCLIN Sud-Est.

-M-

Maddi S. et Menasra L. (2022). Les infections à entérobactéries et leurs antibiorésistances au niveau de l'EPH d'El khroub, Constantine. [Mémoire de master]. Constantine : Université Constantine 1. p.7.

Madigan M. et Martinko J. (2007). Brock biologie des microorganismes 11ème édition. Paris. P.354.

Malek I. (2023). Ponction péricardique : Guide complet. Groupe sante pour tous. [En ligne]. <https://groupesantepourtous.com/ponction-pericardique/>. (Consultée le 08/05/2024).

Mamadou S. (2020). caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotique des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* isolés chez les humains ,les animaux, les enivrement au laboratoire Rodolphe Mérieux Bamako. Thèse de doctorat. MALI : Université des Sciences des techniques et des technologies de Bamako. p74.

Marin J.S. Mécanismes d'action des antibiotiques. (14/02/2018). [Image] dans information-dentaire.fr. Disponible sur <https://www.information-dentaire.fr/formations/evitons-l-abus-d-> (Consultée le 06/03/2024).

Mirabaud M.I. (2003). Entérobactéries à β -lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996. La Faculté de Médecine de l'Université de Genève. Thèse de Doctorat en médecine.

-N-

Nouri M. et Ziadi C. (2015). Etude bactériologique et résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*. [Mémoire de master]. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine .p39.

-O-

Oukrid A. et Kaim A. (2020). Examen cyto bactériologique des liquides pleuraux et d'ascites : les principales étiologies incriminées et le profil d'antibiorésistance. [Mémoire de master]. Blida : Université blida 1. P1-9.

Ould Baba Ali R. et Taibi KH. (2019). Etude de l'antibiorésistance des souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées à l'hôpital de Boufarik. [Mémoire de master]. Blida : Université blida 1. P32-33.

-P-

Paolozzi L. et Liebart J.C. (2015). Microbiologie: Biologie des procaryotes et de leurs virus. Paris: Les presses d'Espagne par Unigraf S.L.

Perriere G. (1992). Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation de certains aspects de l'expression des gènes chez *E. coli* UCBL. Thèse de Doctorat en pharmacie, Lyon : Université Claude Bernard. P.77.

Peyrou M. (2001). Antibiorésistance des souches bactériennes d'origine équine. Thèse de doctorat : Toulouse. Université de Toulouse.

Pilet C. (1979). Les entérobactéries: Bactériologie médicale et vétérinaire; systématique bactérienne. Paris: Doins.

-R-

Ramdani B.N. ; Seghier M. ; Belouni R. et Bensliman A. (2009). Manuel de microbiologie. Alger: Les presses de l'office des publications universitaires. p91-92.

Rowe-Magnus D.A.; Guerout A.M.; Ploncard P.; Dychinco B. ; Davies J. et Mazel D. (2001). The evolutionary history of chromosomal super-integrins provides an ancestry for multiresistant integrins. Proc Natl Acad Sci USA.

-S-

Saadaoui M. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassani de Settat. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V. p.48.

Schäffler A. et Menche N. (2004), ANATOMIE PHYSIOLOGIE BIOLOGIE 2eme édition. Paris. P.197

Seck R. (2005). Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'infections urinaires. Thèse de Doctorat en pharmacie. Sénégal : Université cheikh Anta Diop de Dakar. P.47.

Souna D. (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbas. [Mémoire de master]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid.

Suzanne C. ; Smeltzer G. et Brenda G. (2011). Fonctions respiratoires, cardiovasculaire et hématologique. Partie 5 : fonction respiratoire. Soins infirmiers en médecine et chirurgie. 5ème édition, Vol 2 ,1500 p.758.

-T-

Talbert M. ; Willoquet G. et Gervais R. (2015). Guide pharmaco clinique. Italie : Les presses d'imprimer LEGOPRINT. p.1060.

Terkja DN. (2014). Étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen. [Mémoire de master]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.

-T-

Vibert J.F. ; Sébille A. ; Lavallard-Rousseau M.C. et Boureau F. (2005). Neurophysiologie de la physiologie à l'exploration fonctionnelle. Paris. P.190.

-W-

Werth B. (2022). Macrolides. Le manuel MSD. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/bact%C3%A9ries>. (Consultée le 01/05/2024).

-Z-

Zalif B. et Zerkine N. (2021). Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Enterobacter cloacae* isolées au niveau de l'établissement public hospitalier El bir Constantine. [Mémoire de master]. Constantine : Université Constantine 1. P8-15.

Zrardi M. (2020). LES ENTÉROBACTÉRIES : ÉPIDÉMIOLOGIE ET RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES. [Mémoire de master]. Constantine : Université Constantine 1. P3-4.

Annexes

Annexes

Annexe 1

1. L'examen à l'état frais

Technique

- Déposer une petite goutte d'eau stérile sur la lame.
- Prélever une fraction de colonies sur gélose.
- Faire une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum,
- Recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air.
- Le liquide ne doit pas déborder (sinon jeter la lame dans une solution désinfectante et recommencer).
- Observer à l'objectif x40

2. Coloration au bleu de méthylène

Technique

- Sur le frottis fixé et refroidi faire couler la solution de bleu de méthylène jusqu'à ce que toute la lame soit recouverte.
- Laisser agir Cinq minutes.
- Rincer la lame avec une pissette d'eau distillée, jusqu'à élimination des colorants en excès.
- Sécher à l'air ou sur une platine chauffante, puis examiner au microscope à l'immersion au grossissement x100.

3. Coloration de Gram

Technique

- Préparer un frottis sur une lame propre, le fixer à la chaleur et le recouvrir avec un colorant de violet de gentiane, pendant 1 minute.
- Fixer la première coloration par le lugol, laisser 1 minute.
- Rejeter le lugol, rincer à l'eau.
- Décolorer à l'alcool jusqu'à ce que la dernière goutte devienne claire et laisser pendant 30 secondes.
- Rincer à l'eau et recouvrir la lame avec de la Fushine, laisser agir une minute.
- Rejeter la Fushine, laver abondamment égoutter, puis sécher à la chaleur.
- Lire à l'objectif x100 à l'aide d'huile à immersion.

- Les bactéries Gram positif se colorent en violet alors que les Gram négatif se colorent en rose.

Annexe 2 : les milieux de cultures

Milieu	Composition	Utilisation
Gélose au sang frais	Pour un litre d'eau distillée : Peptone de viande.....10g Peptone de caséine.....5g Extrait de levure.....3g Chlorure de sodium.....5g Agar.....18g Sang de mouton.....50 ml pH=6.9	Isolement des germes exigent parmi eux : les <i>Streptocoques</i> se développent très bien par leur action hémolytique
Gélose au sang cuit	Pour un litre d'eau distillée : Peptone de viande.....7.5g Peptone de caséine.....7.5g Amidon de maïs.....1g Phosphate dipotassique.....4g Chlorure de sodium.....5g Hémoglobine.....10g Agar.....10g Sang de mouton.....50 ml pH=6.9	Isolement des germes exigeants
Gélose Chapman	Peptone.....11g Extrait de viande.....1g Chlorure de sodium.....75g Mannitol.....10g Rouge de phénol.....0.025g Agar.....15g pH=7.4	C'est un milieu qui permet l'isolement sélectif de <i>Staphylococcus</i> sur la base d'une tolérance à une forte teneur en Na Cl qui assure le pouvoir sélectif.
Gélose Hektoen	Peptone pepsique de viande15 g Extrait de viande 3 g Extrait de levure3 g Lactose 12g Salicine 2 g Saccharose12 g Chlorure de sodium 5 g Sels biliaires 4g Bleu de Bromothymol0,064 g Fuchsine acide 0,1 g Agar 18g Eau distillé 1000 ml pH = 7,4	Milieu d'isolement des nombreuses bactéries à Gram négatif
Gélose Mueller-Hinton	Infusion de viande de bœuf.....300ml Peptone de caséine.....17.5g Amidon de maïs.....1.5g Agar.....10g pH= 7.4	Milieu relativement riche, mais qui reste un milieu de base qui permet la culture des bactéries non exigeantes. Permet de la réalisation de l'antibiogramme standard (principale utilisation).

Annexe 3 : la fiche de résultat d'antibiogramme pour les entérobactéries

**E.H.S SIDI MABROUK -CONSTANTINE-
UNITE DE MICROBIOLOGIE
ANTIBIOGRAMME -ENTEROBACTERIE-
LABORATOIRE CENTRAL**

NOMPRENOM..... N°.....
NATURE DE PRELEVEMENT :.....SERVIE.....
DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :.....

AMOXICILLINE		GENTAMYCINE		
AMOXICILLINE + AC . CLAVULANIQUE		KANAMYCINE		
TICARCILLINE		TORBRAMYCINE		
PIPERACILLINE		NETILMYCINE		
TAZOCILLINE		AMIKACINE		
CEFAZOLINE		ISEPAMYCINE		
CEFOXITINE		ACIDE NALIDIXIQUE		
CEFOTAXIME		PEFLOXACINE		
CEFTAZIDIME		CIPROFLOXACINE		
CEFPIME		SULFAMETHOXAZOLE + TRIMTTHOPRIME		
AZTREONAM		COLISTINE		
IMIPENEME		CHLORAMHPHENICOL		
MINOCYCLINE		NITROFURANTOINE		
FOSFOMYCINE				

S.Sensible R : résistant I : Intermédiaire

Date de Réponse :

Opérateur,.....

Annexe 4 : liste des antibiotiques utilisés lors de la réalisation de l'antibiogramme d'*Enterobacteriaceae*

Famille	Antibiotique	Abréviation
Les Bêta-lactamines	Amoxicilline	AMX
	Amoxicilline + acide clavulanique	AMC
	Ticarcilline	TIC
	Céfazoline	CZ
	Céfoxitine	FOX
	Céfotaxime	CTX
	Céfpime	CPM
	Aztreonam	ATM
	Imipenème	IPM
Aminosides	Gentamycine	GEN
	Torbramycine	TM
	Amikacine	AN
Quinolones / Fluoroquinolones	Acide Nalidixique	NAL
	Ciprofloxacine	CIP
Autres	Sulfaméthoxazole + triméthoprime	SXT
	Colistine	CS
	Fosfomycine	FOS
	Chloramphénicol	C

Annexe 5 : Les ponctions analysées durant la période de stage

Numéro de prélèvement	Date	Type de ponction	Service	Aspect	Cytologie	Culture
01	03/02	Ponction d'ascite	Réanimation		Présence de 15 à 20 éléments cellulaires/mm ³ dont 60% polynucléaires et 40% lymphocytes. Présence de germe.	<i>Escherichia coli</i>
02	03/02	Ponction lombaire	Nursérie	Liquide clair	Présence de 04 éléments cellulaires/mm ³ dont 03 polynucléaires et 01 lymphocyte.	Négative
03	10/02	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Absence d'éléments cellulaires.	Négative
04	10/02	Ponction lombaire	Urgences	Liquide trouble	Présence de 1000 éléments cellulaires/mm ³ dont 90% polynucléaires et 10% lymphocytes.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
05	12/02	Ponction pleurale	Réanimation	Liquide trouble	Présence de 350 éléments cellulaires/mm ³ dont 30% polynucléaires et 70% lymphocytes.	Négative
06	12/02	Ponction lombaire	SC	Liquide hématique	Présence de 110 éléments cellulaires/mm ³ dont 80% polynucléaires et 20% lymphocytes.	Négative
07	12/02	Ponction lombaire	SC	Liquide hématique	Présence de 24 éléments cellulaires/mm ³ dont 13 polynucléaires et 11 lymphocytes.	Négative

08	15/02	Ponction pleurale	Réanimation	Liquide trouble	Présence de 127 éléments cellulaires/mm ³ dont 40% polynucléaires et 60% lymphocytes.	Négative
09	18/02	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Présence de 05 éléments cellulaires/mm ³ dont 03 polynucléaires et 02 lymphocytes.	Négative
10	19/02	Ponction lombaire	Nursérie	Liquide clair	Présence de 38 éléments cellulaires/mm ³ dont 40% polynucléaires et 60% lymphocytes.	Négative
11	20/02	Ponction pleurale	Réanimation		Nappe d'éléments cellulaires dont 70% polynucléaires et 30% lymphocytes.	Négative
12	21/02	Ponction lombaire	SC	Liquide clair	Présence de 05 éléments cellulaires/mm ³ dont 02 polynucléaires et 03 lymphocytes.	Négative
13	22/02	Ponction d'ascite	Réanimation		Nappe d'éléments cellulaires dont 90% polynucléaires et 10% lymphocytes.	Contaminé
14	24/02	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Absence d'éléments cellulaires.	Négative
15	24/02	Ponction lombaire	Grand enfant	Liquide clair	Présence de 07 éléments cellulaires/mm ³ dont 01 polynucléaires et 06 lymphocytes.	Négative
16	26/02	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Absence d'éléments cellulaires.	Négative

17	27/02	Ponction lombaire	Nurserie	Liquide légèrement hématique	Présence de 47 éléments cellulaires/mm ³ dont 60% polynucléaires et 40% lymphocytes.	Négative
18	06/03	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Présence de 10 éléments cellulaires/mm ³ de nature lymphocytaires.	Négative
19	07/03	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Présence de 07 éléments cellulaires/mm ³ dont 02 polynucléaires et 05 lymphocytes.	Négative
20	07/03	Ponction lombaire	Urgences		Présence de 15 éléments cellulaires/mm ³ dont 90% polynucléaires et 10% lymphocytes.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
21	07/03	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Absence d'éléments cellulaires.	Négative
22	09/03	Ponction lombaire	Nurserie	Liquide clair	Présence de 40 éléments cellulaires/mm ³ dont 20% polynucléaires et 80% lymphocytes.	Négative
23	09/03	Ponction d'ascite	Urgences	Liquide trouble	Nappe d'éléments cellulaires de nature polynucléaire	Négative
24	10/03	Ponction pleurale	SC		Présence de 09 éléments cellulaires/mm ³ dont 02 polynucléaires et 07 lymphocytes.	Négative
25	11/03	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Absence d'éléments cellulaires.	Négative

26	12/03	Ponction lombaire	Nursérie	Liquide clair	Présence de 55 éléments cellulaires/mm ³ dont 30% polynucléaires et 70% lymphocytes.	Négative
27	14/03	Ponction lombaire	Nursérie		Présence de germe bacille	<i>Klebsiella pneumoniae</i> + <i>Escherichia coli</i>
28	14/03	Ponction lombaire	Grand enfant	Liquide légèrement clair	Présence de 10 éléments cellulaires/mm ³ de nature lymphocytes.	Négative
29	22/03	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Présence de 04 éléments cellulaires/mm ³ dont 03 polynucléaires et 01 lymphocyte.	Négative
30	25/03	Ponction lombaire	SC	Liquide légèrement trouble	Présence de 272 éléments cellulaires/mm ³ dont 90% polynucléaires et 10% lymphocytes.	Négative
31	28/03	Ponction lombaire	Chirurgie	Liquide légèrement trouble	Présence de 119 éléments cellulaires/mm ³ dont 90% polynucléaires et 10% lymphocytes.	Négative
32	31/03	Ponction lombaire	Nursérie	Liquide clair	Absence d'éléments cellulaires.	Négative
33	02/03	Ponction lombaire	Urgences	Liquide clair	Absence d'éléments cellulaires.	Négative

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : MILI Hafiza Dikra
BENMALEK Khawla
MEGHZILI Khadidja

Etude de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries isolées de différents liquides de ponctions au niveau de l'hôpital pédiatrique El Mansourah Constantine

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé

L'antibiorésistance est un phénomène en évolution permanente qui concerne l'ensemble du monde bactérien et toutes les familles d'antibiotiques thérapeutiques. Ce travail vise à déterminer le profil de résistance aux antibiotiques de certaines entérobactéries isolées de différents liquides de ponction au laboratoire de bactériologie de l'hôpital pédiatrique El Mansourah, Constantine. 20 souches d'entérobactéries ont été isolées (11 souche d'*E. coli*, 07 de *K. pneumoniae*, 01 d'*Enterobacter* spp et 01 de *Salmonella* spp). Ces souches présentent des profils de résistances différents. Des pourcentages élevés sont obtenus pour l'Amoxicilline (90%), l'Amoxicilline + l'acide clavulanique (80%), la Ticarcilline (80%), la Céfazoline (60%) et la Sulfamethoxazole + triméthoprime (60%) et une moyenne résistance pour l'Acide Nalidixique (55%), l'Aztreonam (50%) et la Céfipime (45%), la Céfotaxime (40%) et une faible résistance pour la Céfoxitine (35%), la Gentamycine (35%), la Ciprofloxacine (25%), l'Imipénème (20%), la Torbramycine (20%), la Fosfomycine (10%) et l'Amikacine (5%) Tandis que la Colistine et la Chloramphénicol qui restent sensible à 100% sur toutes les souches. Cette antibiorésistance présente un énorme risque pour la santé humaine.

Mots-clefs : Antibiotiques, Antibiorésistance, Entérobactéries, Liquides des ponctions.

Laboratoires de recherche : laboratoire de bactériologie de l'hôpital pédiatrique El Mansourah, Constantine.

Président du jury : Mme MEZIANI. M (M.C.B - UFM Constantine 1).

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

Examineur(s) : Mme MERGOUD. L (M.A.A - UFM Constantine 1).