



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 : ميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie

Spécialité : Biologie moléculaire des microorganismes

Intitulé :

**Caractérisation de quelques entérobactéries pathogènes isolées des coprocultures au niveau du laboratoire d'hygiène, Constantine. Etude du profil de résistance aux antibiotiques.**

Présenté par : Djebli Romaissa Nibel

Le : 25/06/2025

Delimi Ouail

Kirouani Ilhem

Président : RIAH Nassira (MCA) Université Constantine 1 Frères Mentouri

Encadrant : BOUZERAIB Latifa (MAA) Université Constantine 1 Frères Mentouri

Examineur : MEZIANI Meriem (MCA) Université Constantine 1 Frères Mentouri

Année universitaire  
2024 – 2025

## Remerciements

Nous remercions tout d'abord **Allah** Le Tout Puissant pour nous avoir accordé la santé, l'énergie et l'opiniâtreté nécessaire à la réalisation de ce modeste travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à **Mme BOUZERAIB L**, pour son encadrement précieux, ses conseils et sa disponibilité tout au long de ce travail. Son expertise et son soutien ont été déterminants dans la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier les membres de jury Mme **RIAH N** qui nous a fait l'honneur de présider le jury et Mme **MEZIENI M** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos vifs remerciements à toute l'équipe du laboratoire d'hygiène (DAKSI Constantine ) précisément Mme **Mhazem souad** pour sa gentillesse.

Nous tenons à saisir un remerciement assez spécial pour nous-même pour toute la patience durant toutes ces années.

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 « Hichem »

À mon héros sans cape, celui qui a su me relever à chaque chute, me transmettre le goût de l'effort, et m'apprendre que l'amour d'un père est un héritage sans prix.

Merci Pour tes sacrifices qui ont pavé ma route, et pour cette fierté discrète qui me pousse à toujours donner le meilleur de moi-même.

A ma très chère Maman « Sabrina »

Mon premier amour, ma force tranquille, mon éternel refuge. Tu m'as appris que la réussite ne se mesure pas aux étoiles, mais à la tendresse d'un cœur, à la patience d'un sourire, et à ce courage silencieux qui fait tourner les mondes. Merci pour tes mains qui ont essuyé mes larmes avant même qu'elles ne coulent, pour tes nuits transformées en prières et tes matins en encouragements, pour cet amour qui ne compte jamais, et cette fierté qui me donne des ailes même quand tu ne dis rien. Ce mémoire est ton histoire autant que la mienne, chaque mot est bercé par tes sacrifices, chaque page est teintée de tes rêves pour moi.

A ma sœur « Anfel »

Mon miroir, ma complice, celle qui sait lire entre mes silences. Merci pour tes rires qui ont allégé mes journées, pour tes conseils avisés et ta patience infinie, et pour cette complicité qui rend chaque épreuve plus douce.

A mon frère « Raid»

Mon partenaire de défis. Merci pour ta force tranquille qui m'a inspiré, pour tes encouragements sans faille, et pour cette loyauté qui ne s'est jamais démentie.

Vous êtes les étoiles qui éclairent ma nuit, et les ailes qui me poussent vers demain.

A ma cousine « Ghada »

Ma chérie ,Tu n'es pas seulement une cousine, tu es une sœur que la vie m'a offerte,

Une complice de rires, de confidences et de rêves partagés. Merci pour ta présence lumineuse, pour ton soutien inconditionnel dans mes moments de doute, et pour cette

complicité unique qui rend chaque journée plus belle. Ce diplôme est aussi le tien, car tu as cru en moi même quand je doutais de moi-même.

A mon collègue « Ouail »

Je tiens à dédier ce travail à une personne qui a su allier professionnalisme, bienveillance et amitié tout au long de cette aventure. Travailler à tes côtés a été bien plus qu'un simple partenariat professionnel. Tu as été un soutien constant, un confident, une source d'encouragement dans les moments difficiles, et un compagnon de rires dans les bons moments. Ta rigueur, ta bonne humeur et ton esprit d'équipe ont grandement contribué à la réussite de ce projet, mais aussi à rendre chaque journée de travail plus agréable .Merci pour ton écoute, ta disponibilité et ta loyauté. Plus qu'un collègue, tu es un véritable ami, et j'espère que cette collaboration n'est que le début d'un long chemin partagé.

A mes collègues

Sourour , Norhane, Badra, Anwar , Dounya . Ce travail n'aurait pas été le même sans votre soutien, vos échanges et vos précieuses contributions. Merci pour Votre collaboration qui a rendu chaque défi plus facile à surmonter, vos conseils avisés qui ont enrichi ma réflexion, votre bonne humeur qui a transformé les moments de stress en souvenirs joyeux.

Et aussi à ma belle grande mère « Ouarda» , et à mes tantes « Samia » , « Fatima » et « Sorya» , Le fils de ma tante « Hamidou » , et tous mes oncles .

A ma chère Afifa .

A la mémoire de mes grands-pères « Djebli saad , Zeroual Amor » et à ma grand-mère « Bouzeraib annaba ».

Et en fin à ma collègue de travail « Ilhem» merci pour votre soutien.



**NIBEL**

# Dédicaces

Que ce travail soit le reflet de ma passion pour avoir eu le courage de reprendre les études.

Je dédie ce mémoire.

A ma mère d'avoir eu confiance à mes capacités , qu' elle trouve ici l' expression de ma reconnaissance et ma profonde affection.

A la mémoire de mon cher père.

A mes chers enfants. Rana. Razan et Racim pour leur aide et compréhension.

A ma famille.

A ma sœur et mes frères.

A tous ceux qui m'ont encouragé de continuer malgré tous les défis enseignant surtout madame Abdelaziz, Sekhri, Maghnous et Meziani et d'autres, je tiens à leur exprimer ma reconnaissance .

A mes chères amies Soulef ,Houda,Ibtissem,Ilhem,Karima,Naima,Maya etSouad

A tout le personnel du laboratoire d'hygiène sans oublier monsieur Bechlem Laid .

Enfin, je remercie mon binôme qui a contribué à la réalisation de ce travail.



**ILHEM**

# Dédicaces

Je dédie ce mémoire à mes chers parents Ratiba et Ali pour leur amour, leur patience et leurs sacrifices inestimables.

A mon frère et Ma sœur, Abderahmae, Khadidja Alaa , pour leur soutien et leurs encouragements constants.

A mes chères binômes Romaissa Nibel et Ilhem, avec qui j'ai partagé des moments inoubliables.



**OUAIL**

## Résumé

La propagation mondiale des souches d'entérobactéries multi-résistantes connaît une évolution inquiétante, limitant fortement les options thérapeutiques disponibles. Ce travail vise à déterminer le profil de résistance de certaines entérobactéries isolées des selles ou laboratoire d'hygiène, Constantine. Au total, 67 souches d'entérobactéries ont été isolées 60 souches d'*E. coli*, 1 souche d'*Enterobacter cloacae*, 1 souche de *Salmonella* spp, 2 souches d'*Aeromonas hydrophila*, 2 souches de *Pseudomonas fluorescens* et 1 souche *Pseudomonas aeruginosa* ). Ces souches présentent des profils de sensibilité élevées pour l'acide nalidixique (82%), la Gentamicine (92%), la céfixime(86%), l'amoxicilline+ acide clavulanique (91%)et le chloromphénicol (95%) et une résistance moyenne pour l'amoxycilline (40%), la céfazoline (64%) et à l'ampiciline (53%). Tandis que la colistine reste sensible à 100% sur toutes les souches.

**Mots-clés :** Antibiotiques, résistance, entérobactéries, coprocultures.

## **Abstract**

The global spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae strains is evolving in a concerning manner, significantly limiting available therapeutic options. This study aims to determine the resistance profile of certain Enterobacteriaceae strains isolated from stool samples at the Hygiene Laboratory in Constantine. A total of 67 Enterobacteriaceae strains were isolated, including 60 strains of *E. coli*, 1 strain of *Enterobacter cloacae*, 1 strain of *Salmonella spp.*, 2 strains of *Aeromonas hydrophila*, 2 strains of *Pseudomonas fluorescens*, and 1 strain of *Pseudomonas aeruginosa*. These strains exhibited high sensitivity rates to nalidixic acid (82%), gentamicin (92%), cefixime (86%), amoxicillin + clavulanic acid (91%), and chloramphenicol (95%). Moderate resistance was observed to amoxicillin (40%), cefazolin (64%), and ampicillin (53%). Colistin remained 100% effective against all isolated strains.

**Keywords :** Antibiotics, Antibiotic resistance, Enterobacteria , Stool culture.



## ملخص

ينتشر سلالات البكتيريا المعوية المقاومة المتعددة للأدوية على مستوى العالم بشكل مقلق، مما يحد بشكل كبير من الخيارات العلاجية المتاحة. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد نمط المقاومة لدى بعض سلالات البكتيريا المعوية المعزولة من عينات براز في مخبر النظافة بمدينة قسنطينة. تم عزل ما مجموعه 67 سلالة من البكتيريا المعوية، منها 60 سلالة من الإشريكية القولونية (إي كولاي)، وسلالة واحدة من المتقلبة المعوية (إنتروبيكتر كلاوكاي)، وسلالة واحدة من السالمونيلا، وسلالتان من الإيرومونات الهيدروفيلية، وسلالتان من الزوائف الفلورية، وسلالة واحدة من الزوائف الزنجارية. أظهرت هذه السلالات نسب حساسية مرتفعة تجاه حمض الناليديكسك (82%)، والجنتاميسين (92%)، والسيفيكسيم (86%)، والأموكسيسيلين مع حمض الكلافولانيك (91%)، والكلورامفينيكول (95%). كما لوحظت مقاومة متوسطة تجاه الأموكسيسيلين (40%)، والسيفازولين (64%)، والأمبيسيلين (53%). وقد بقي الكوليسيتين فعالاً بنسبة 100% ضد جميع

السلالات المعزولة

الكلمات المفتاحية : المضادات الحيوية ، مقاومات المضادات الحيوية ، البكتيريا الحيوية ، زرع البراز.

## Liste des figures

- Figure 1** : Structure des bactéries à Gram négatif
- Figure 02** : Morphologie des Entérobactéries
- Figure 03** : Caractères culturels *Salmonella* spp
- Figure 04** : Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae
- Figure 05** : Morphologie et structure d' *E. coli*
- Figure 06** : Résultat de la coproculture
- Figure 07** : Cibles des antibiotiques
- Figure 08** : Antibiorésistance
- Figure 09** : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame
- Figure 10** : Galerie API 20E avant l'inoculation
- Figure 11** : Aspect macroscopique des colonies d'*E. coli* sur milieu Hektoen
- Figure 12** : Aspect macroscopique des colonies *Pseudomonas fluorescens* sur milieu Hektoen.
- Figure 13** : Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas fluorescens* sur Mac Conkey
- Figure 14** : Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur Mac Conkey
- Figure 15** : Aspect macroscopique des colonies *Aeromonas hydrophila* sur Mac Conkey
- Figure 16** : Aspect macroscopique des colonies d'*Enterobacter cloacae* sur Mac Conkey.
- Figure 17** : Aspect macroscopiques des colonies *E. coli* sur milieu Mac Conkey
- Figure 18** : Observation microscopique après coloration de Gram des bactéries à Gram négatif
- Figure 19** : Test de l'oxydase négatif
- Figure 20** : Test oxydase positif
- Figure 21** : Test catalase positif
- Figure 22** : Pourcentage des cultures selon la nature des cultures (n=100)
- Figure 23** : Pourcentage des cultures positives selon le sexe (n=67)
- Figure 24** : Répartition des souches isolées selon l'espèce bactérienne (n=67)
- Figure 25** : Profil global de résistance des souches isolées (n=67)
- Figure 26** : Taux de résistance des souches d'*Escherichia coli* (n=60)
- Figure 27** : Taux de résistance des souches de *Pseudomonas fluorescens* (n=2)
- Figure 28** : Taux de résistance des souches d' *Enterobacter cloacae* (n=1)
- Figure 29** : Taux de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* (n=1)
- Figure 30** : Taux de résistance des souches d'*Aeromonas hydrophila* (n=2)

**Figure31 :** Taux de résistance des souches de *Salmonella* spp isolées (n=1)

**Figure32:** Production des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (n=67)

## Liste des tableaux

**Tableau01** : Subdivision hiérarchique de classification des entérobactéries

**Tableau 02** : Principaux groupes d'entérobactéries

**Tableau 03** : Caractères biochimiques des entérobactéries

**Tableau 04** : Sérotypes des *E. coli* pathogènes chez l'homme

**Tableau 05** : Principales familles d'antibiotiques

**Tableau 06**: Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

**Tableau 07** : Tests biochimiques de la Galerie classique

**Tableau 08** : Aspect des colonies de *Pseudomonas fluorescens* sur milieu Hektoen

**Tableau 09** : Aspect des colonies *Pseudomonas fluorescens* sur milieu Mac Conkey

**Tableau 10** : Aspect des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur milieu Mac Conkey

**Tableau 11** : Aspect des colonies d'*Aeromonas hydrophila* sur milieu Mac Conkey

**Tableau 12** : Aspect des colonies d' *Enterobacter cloacae* sur milieu Mac Conkey

**Tableau 13** : Aspect des colonies d' *E. coli* sur milieu Mac Conkey

**Tableau 14** : Résultats de la galerie API 20 E d'*E. coli*

**Tableau15**: Résultats de la galerie API 20 E de *Pseudomonas aeruginosa*

**Tableau 16** : Résultats de la galerie API 20 E d'*Enterobacter cloacae*

**Tableau 17** : Résultats de la galerie API 20 E d'*Aeromonas hydrophila*

**Tableau 18** : Résultats de la galerie API 20 E de *Pseudomonas fluorescens*

## **Liste des Annexes**

**Annexe 01 :** Coloration de Gram.

**Annexe 02 :** Milieux de cultures, Tests, Réactifs.

**Annexe 03 :** Fiche d'identification de la Galerie API20E.

**Annexe 04 :** Fiche de renseignement.

## Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Table des matières

Introduction.....1

### Chapitre I : Entérobactéries

|  |    |
|--|----|
| 1. Définition.....                     | 3  |
| 2. Habitat .....                       | 3  |
| 3. Taxonomie des entérobactéries ..... | 4  |
| 4. Caractères morphologiques .....     | 6  |
| 5. Caractères Culturels .....          | 6  |
| 6. Caractères biochimiques.....        | 8  |
| 7. Caractères antigéniques.....        | 9  |
| 7.1. Antigènes O (ou somatiques) ..... | 9  |
| 7.2. Antigènes H.....                  | 9  |
| 7.3. Antigènes capsulaires K .....     | 10 |
| 7.4. L'antigène Kunitz.....            | 10 |
| 8. Pouvoir Pathogène.....              | 11 |
| 8.1. <i>Escherichia</i> .....          | 11 |
| 8.2. <i>Shigella</i> .....             | 13 |
| 8.3. <i>Salmonella</i> .....           | 13 |
| 8.4. <i>Yersinia</i> .....             | 13 |

### Chapitre II: Coprocultures

|  |    |
|--|----|
| 1. Définition.....                     | 15 |
| 2. Objectif de coproculture.....       | 15 |
| 3. Indication de la coproculture ..... | 15 |

|   |    |
|---|----|
| 4. Résultats normaux et anormaux d'une coproculture ..... | 16 |
| 5. Bactéries pathogènes trouvés dans les selles .....     | 16 |

### Chapitre III: Résistance aux antibiotiques

|  |    |
|--|----|
| 1. Définition des antibiotiques.....                       | 18 |
| 2. Classification des antibiotiques .....                  | 18 |
| 3.Mode d'action.....                                       | 19 |
| 4. Association des antibiotiques .....                     | 20 |
| 5. Définition de l'antibiogramme .....                     | 20 |
| 6. Définition de l'antibiorésistance.....                  | 21 |
| 7 .Types de l'antibiorésistance .....                      | 21 |
| 7.1. Résistance naturelle .....                            | 21 |
| 7.2. Résistance acquise .....                              | 22 |
| 8. Mécanisme de résistance des entérobactéries.....        | 22 |
| 8.1. Mécanisme de résistance aux $\beta$ -lactamines ..... | 22 |
| 8.2. Mécanisme de résistance aux aminosides .....          | 24 |
| 8.3. Mécanisme de résistance aux quinolones.....           | 24 |

### Matériel et Méthodes

|   |    |
|---|----|
| 1 Lieu et durée de l'étude .....            | 27 |
| 1.1 Centre d'étude .....                    | 27 |
| 1.2 Duré et type d'étude .....              | 27 |
| 2. Matériel .....                           | 27 |
| 2.1 Milieux de culture et réactifs.....     | 27 |
| 3.1 Mode de prélèvement .....               | 28 |
| 3.2 Services et origines des souches.....   | 28 |
| 3.3 Examen macroscopique des selles.....    | 28 |
| 3.4 Enrichissement et isolement .....       | 29 |
| 3.5 Examen macroscopique des colonies ..... | 29 |
| 3.6 Examen microscopique .....              | 30 |
| 3.6.1 Coloration de Gram .....              | 30 |
| 3.7. Identification biochimique.....        | 30 |
| 3.7.1 Galerie classique.....                | 30 |
| 3.7.2 Galerie API 20E .....                 | 33 |
| 3.8 Antibiogramme.....                      | 35 |

### Résultats et discussion

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 1. Aspects culturels ..... | 37 |
|----------------------------|----|

|   |    |
|---|----|
| 1.1 Examen macroscopique des colonies .....   | 37 |
| 1.2 Examen microscopique des colonies.....  | 43 |
| 1.3 Résultats de l'identification biochimique par galerie classique .....                 | 44 |
| 2. Résultats de l'étude statistique .....   | 48 |
| 2.1. Répartition des données.....   | 48 |
| 2.1.1. Répartition des cas suspects des coprocultures .....                               | 48 |
| 2.1.2. Répartition des cas positifs des coprocultures selon le sexe .....                 | 48 |
| 2.1.3. Répartition des souches isolées selon l'espèce bactérienne .....                   | 49 |
| 2.2. Profil de résistance et de sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques ..... | 50 |
| 2.2.2. Profil de résistance et de sensibilité de <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....     | 51 |
| 2.2.3. Profil de résistance et de sensibilité d' <i>Enterobacter cloacae</i> .....        | 52 |
| 2.2.4. Profil de résistance et de sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....      | 53 |
| 2.2.5. Profil de résistance et de sensibilité d' <i>Aeromonas hydrophila</i> .....        | 53 |
| 2.2.6. Profil de résistance et de sensibilité de <i>Salmonella</i> spp .....              | 54 |
| 2.2.7. Production des BLSE .....  | 55 |
| Conclusion.....   | 60 |
| Perspectives.....   | 60 |
| Références bibliographiques   |    |
| Annexes   |    |



# Introduction

## Introduction

---

Ces dernières années, l'émergence et la propagation de bactéries multirésistantes aux antibiotiques constituent un phénomène préoccupant, complexe et en constante évolution (**Grimont et Grimont, 2006**). Parmi les pathogènes cliniques les plus redoutables, certaines espèces, naturellement résistantes, parviennent désormais à développer des résistances même face aux antibiotiques les plus récents. Cette situation représente un défi majeur pour la santé publique, avec des conséquences graves sur la prise en charge des infections (**Anju et al., 2020**).

Durant ces dernières années, une augmentation alarmante des résistances bactériennes aux antibiotiques couramment utilisés a été observée. Parmi les pathogènes préoccupants, les entérobactéries figurent en tête des germes responsables d'infections nosocomiales et communautaires, en raison de leur capacité à développer des mécanismes de résistance complexes (**Ebongue et al., 2015**).

Les entérobactéries représentent une famille bactérienne majeure. En médecine, elles sont impliquées dans de nombreuses pathologies infectieuses. Leur impact clinique est considérable, causant aussi bien des infections nosocomiales que communautaires : pneumonies, infections urinaires, septicémies, ou encore infections intra-abdominales (**Gharout-Sait, 2016**).

La coproculture est une procédure standardisée pour la détection des bactéries pathogènes qui sont la cause des infections intestinales.

L'objectif de notre travail dans un premier temps consiste à détecter les entérobactéries pathogènes dans les coprocultures qui sont une méthode permettant le diagnostic et l'identification de ces microorganismes au niveau des selles.

Dans un environnement où les infections d'origine alimentaire et les épidémies bactériennes continuent d'être des préoccupations majeures pour la santé publique mondiale, cette analyse microbiologique est importante pour la surveillance épidémiologique, la protection contre les maladies

Dans un deuxième temps consiste à étudier et déterminer le profil de résistance aux antibiotiques chez les souches des entérobactéries isolées.

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

Parties

## Introduction

---

- ✓ 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 réservé de la coproculture, en soulignant sa définition, son objectif qui consiste l'analyse des selles à la recherche des bactéries pathogènes et ses indications.
  - ✓ Le troisième chapitre consiste en l'étude des principaux antibiotiques utilisés, les types de la résistance et la résistance des entérobactéries aux antibiotiques.
- 
- 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.

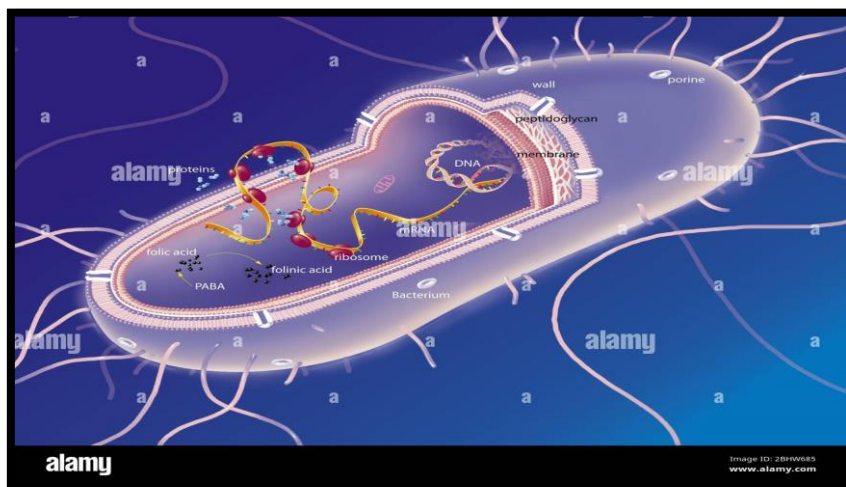
# **Chapitre I: Les entérobactéries**

## 1. Définition

Le terme Entérobactéries est utilisé pour désigner les bactéries intestinales ou autrement connues sous le nom d'*Enterobacteriaceae*, les bactéries appartenant à cette famille sont le plus souvent classées comme commensales ou pathogènes. Ce groupe est un ensemble assez bien défini de bactéries hétérogènes composé de plus de quarante genres et d'un certain nombre d'espèces (pilly , 2013).

Les entérobactéries se caractérisent par les traits suivants :

- ✓ Ce sont des micro-organismes aéro-anaérobies facultatifs qui fermentent le glucose avec ou sans production de gaz .
- ✓ des bactéries à Gram-négatif qui peuvent être immobiles ou mobiles (grâce à des cils péritriches).
- ✓ elles convertissent les nitrates en nitrites.
- ✓ possèdent une catalase, sauf pour *Shigella dysenteriae*, mais elles ne produisent pas d'oxydase et ne forment pas de spores. (Delarras , 2014)



**Figure 01** : Structure des bactéries à Gram négatif (www.alamy.com)

## 2. Habitat

Les entérobactéries se trouvent dans divers environnements et offrent une large gamme d'habitats. Ils se trouvent dans le sol, l'eau, de nombreux aliments, ainsi que dans la cavité buccale, les voies respiratoires supérieures et les organes génitaux .Ces bactéries peuvent être classées comme des organismes commensaux ou pathogènes des systèmes digestifs de

l'homme et des animaux (**Moussa et Moussaoui, 2016**) .Ils constituent plus de 10 % des communautés bactériennes totales décrites pour le côlon. (**Guiraud, 2012**) .

### 3. Taxonomie des entérobactéries

L'ancienne méthode de caractérisation des Enterobacteriaceae reposait sur la fermentation du lactose dans le milieu Mac Conkey. La disponibilité des méthodes moléculaires a considérablement modifié la taxonomie.

trois catégories sont désormais utilisées :

- Le manuel de Bergey (1984).
- Fermen et Kelley (1991) .
- Edwards-Ewing (1986).

Ces catégories ont également utilisé pour la classification. Malgré leurs similitudes, les trois classifications ne sont pas entièrement les mêmes et présentent certaines différences. (**Sastry et Bhat, 2019**).

**Tablau01** : Subdivision hiérarchique de classification des entérobactéries (**Boone et Garrity, 2001**).

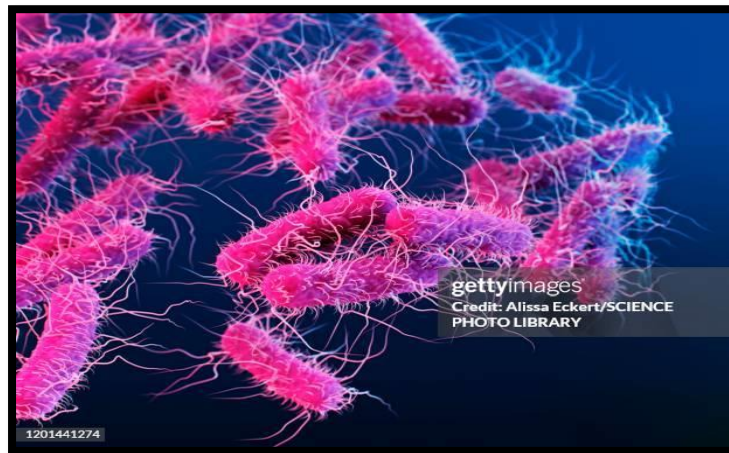
|               |                       |
|---------------|-----------------------|
| Domaine       | Bacteria              |
| Embranchement | Protéobactéries       |
| Classe        | Gamma-protéobactéries |
| Ordre         | Enterobacteriales     |
| Famille       | Enterobacteriaceae    |

Tableau 02 : Principaux groupes d'entérobactéries (Perriere, 1992).

| Groupe     | Familles             | Genres              | Espèces   |
|------------|----------------------|---------------------|---|
| GROUPE I   | <i>Edwardsiellae</i> | <i>Edwardsiella</i> |   |
|            | <i>Salmonelleae</i>  | <i>Salmonella</i>   | <i>Salmonella typhi</i><br><i>S. paratyphi</i><br><i>S. enteritidis</i>                                     |
| GROUPE II  | <i>Escherichia</i>   | <i>Escherichia</i>  | <i>Escherichia coli</i>   |
|            |                      | <i>Shigella</i>     | <i>Shigella dysenteriae</i><br><i>Shigella flexneri</i><br><i>Shigella boydii</i><br><i>Shigella sonnei</i> |
|            | <i>Levineae</i>      | <i>Levinea</i>      |   |
| GROUPE III | <i>Klebsiellae</i>   | <i>Klebsiella</i>   | <i>Klebsiella pneumoniae</i><br><i>Klebsiella oxytoca</i>   |
|            |                      | <i>Enterobacter</i> | <i>Enterobacter aerogenes</i><br><i>Enterobacter cloacae</i>  |
|            |                      | <i>Serratia</i>     | <i>Serratia marcescens</i>  |
|            |                      | <i>Erwinia</i>      |   |
| GROUPE IV  | <i>Proteae</i>       | <i>Proteus</i>      | <i>Proteus mirabilis</i><br><i>Proteus vulgaris</i><br><i>Proteus rettgeri</i>                              |
|            | <i>Providencia</i>   | <i>Providencia</i>  | <i>Providencia alcalifaciens</i><br><i>Providencia rettgeri</i>   |
| GROUPE V   | <i>Yersinieae</i>    | <i>Yersinia</i>     | <i>Y. enterocolitica</i><br><i>Y. pseudotuberculosis</i>  |

#### 4. Caractères morphologiques

Les entérobactéries appartiennent à un groupe de bactéries les plus vastes, mesurent entre 2 à 4  $\mu\text{m}$  et environ 0.6  $\mu\text{m}$  de diamètre. Les dimensions sont très variables, de grosses coccobacilles aux bâtonnets filamenteux et allongés. Les membranes, les parois cellulaires et les structures internes sont morphologiquement similaires dans toutes Entérobactéries (**Ray et Rayn, 2003**). La plupart de ces bactéries sont mobiles grâce à leurs flagelles péritriches. La plupart d'entre elles possèdent des pili sexuels, qui permettent le transfert de la résistance aux antibiotiques ainsi que l'échange de l'information génétique et les fimbriae facilitent l'adhésion aux membranes muqueuses. Ils ne produisent pas de microkystes ni d'endospores et peuvent être encapsulés ou non encapsulés comme *Escherichia coli* (**Brenner et al., 2007 ; Tortora et al., 2003**).



**Figure 02 :** Morphologie des enterobactéries ( [www.gettyimage.com](http://www.gettyimage.com))

#### 5. Caractères Cultureux

In vitro, les bactéries se développent rapidement dans des milieux couramment utilisés. Pour l'aérobiose comme pour l'anaérobiose, avec une température de 37 °C pour une croissance idéale ( **Adjakar, 2015** ) .

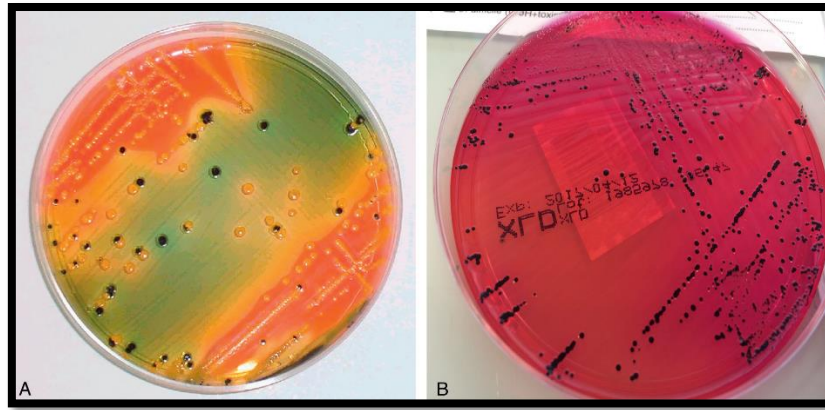
Certaines espèces, comme *Yersinia enterocolitica*, peuvent être incubées pendant 24 heures à 20-40 °C et sont insensibles à 37 °C. Ils ont souvent des besoins nutritionnels plus faibles et existent principalement dans des milieux synthétiques avec des sources de carbone facilement utilisables comme le glucose. . Ce sont des germes neutrophiles et mésophiles (plage de pH optimale : 5,5–8) ( **Delarras, 2007** ).



Les entérobactéries prospèrent dans des milieux basiques, qui peuvent être soit liquides, soit solides. De plus, dans les milieux liquides contenant un agent gélifiant (agar-agar), la base liquide est représentée par un bouillon nutritif, qui est composé de trois composants principaux : des peptones, des extraits de viande et des extraits de levure (Denis et al., 2016).

Les milieux solides qui permettent les tests d'identification ou l'étude de la sensibilité aux antibiotiques sont connus sous le nom de milieux d'isolement. Pour les bactéries non exigeantes comme les enterobactéries, utilisent des géloses de base, qui sont composés de géloses nutritives ordinaires et de géloses tryptone soja et aussi des milieux sélectifs utilisés pour isoler des enterobactéries pathogènes comme le milieu MacConkey, le milieu Hektoen et SS, le milieu XLD (xylose, lysine et désoxycholate) (Denis et al. 2016). Sur géloses, on peut obtenir diverses formes :

- ✓ **L'aspect typique est la forme S (lisse)** : les colonies ont un diamètre de 2 à 4 mm et sont lisses, bombées, brillantes et humides (Adjakar, 2015).
- ✓ **les formes R (rugueuses)** : sont principalement observées avec les souches qui ont subi de nombreuses résections. Les colonies sont sèches, rugueuses, ont des formes irrégulières et une couleur mate, les formes R en bouillon lui donnent une apparence grumeleuse (Adjakar, 2015).
- ✓ **les colonies naines** : sont caractérisées par des souches manquant de certaines de leurs chaînes métaboliques. Ils ne sont pas rares parmi les isolats d'*E. coli* qui cause des infections urinaires (Adjakar, 2015).
- ✓ **Formes M (muqueuses)** : Les colonies ont tendance à confluer et sont plus grandes, avec un diamètre pouvant dépasser 10 mm. Certaines bactéries ont toujours cette caractéristique, comme *Klebsiella*. Ils peuvent également être rencontrés avec d'autres espèces, comme *Salmonella paratyphi* (Freney, 2016).
- ✓ Sur un milieu liquide comme un bouillon nutritif la croissance apparaisse comme un trouble homogène (DCEM1, 2003).



**Figure 03 :** Caractères cultureux *Salmonella* spp sur milieu Hektoen  
([https://aemip.fr/?page\\_id=3658](https://aemip.fr/?page_id=3658))

#### 6. Caractères biochimiques

- ❖ La capacité à fermenter le glucose.
- ❖ La capacité à convertir les nitrates en nitrites.
- ❖ La fermentation du lactose.
- ❖ La production d'indole.
- ❖ La production d'acétoïne.
- ❖ La désamination du tryptophane

Ces caractéristiques biochimiques permettent de distinguer les genres et les espèces. (Avril et al., 2000)

**Tableau 03 :** Caractères biochimiques des entérobactéries (**Ben moussa,2016**)

|                     | Glu | Lac | ONPG | Ind | VP | Cit | Mob | Urée | PDA | H <sub>2</sub> S |
|---------------------|-----|-----|------|-----|----|-----|-----|------|-----|------------------|
| <i>Escherichia</i>  | +   | +   | +    | +   | -  | -   | +   | -    | -   | -                |
| <i>Citrobacter</i>  | +   | +   | +    | -   | -  | +   | +   | -    | -   | +/-              |
| <i>Enterobacter</i> | +   | +   | +    | -   | +  | +   | +   | -    | -   | -                |
| <i>Klebsiella</i>   | +   | +   | +    | +/- | +  | +   | -   | +    | -   | -                |
| <i>Serratia</i>     | +   | -   | +    | -   | +  | +   | +   | -    | -   | -                |
| <i>Salmonella</i>   | +   | -   | -    | -   | -  | +/- | +   | -    | -   | +                |
| <i>Shigella</i>     | +   | -   | +/-  | +/- | -  | -   | -   | -    | -   | -                |
| <i>Proteus</i>      | +   | -   | -    | +/- | -  | +/- | +   | +    | +   | +/-              |
| <i>Providencia</i>  | +   | -   | -    | +   | -  | +   | +   | +    | +   | -                |
| <i>Yersinia</i>     | +   | -   | +    | +/- | +  | -   | +   | +    | -   | -                |

Glu : Glucose ; Lac : Lactose ; ONPG : Orthonitrophénol-bêta-galactosidase ; VP : Voges Proskauer; Cit : Citrate ; Mob: Mobilité ; H<sub>2</sub>S: Sulfure d'hydrogène

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

## 7. Caractères antigéniques

L'étude de plusieurs caractéristiques antigéniques permet de classer les souches appartenant à la même espèce ou genre en sérotypes (**Avril et al. 2000**).

Différents types d'antigènes sont présents dans les *enterobacteries* (**Ndiaye, 2005**).

### 7.1. Antigènes O (ou somatiques)

Toutes les bactéries ont des antigènes de paroi, qui sont constitués de lipopolysaccharides (LPS) thermostables à 100°C et résistants à l'acide et à l'alcool. Les réactions d'agglutination sont causées par des granules qui sont difficiles à séparer par agitation et entraînent une lentification. Les souches R, qui sont auto-agglutinables dans l'eau distillée, perdent la spécificité antigénique O.

### 7.2. Antigènes H

Ce sont des antigènes flagellaires que l'on trouve uniquement dans les souches d'entérobactéries mobiles. Ils sont constitués d'une protéine appelée flagelline, qui est

thermolabile et inactivée par l'alcool . Les réactions d'agglutination se produisent rapidement et sont composées d'agglutinines formant des flocons qui se séparent facilement par agitation

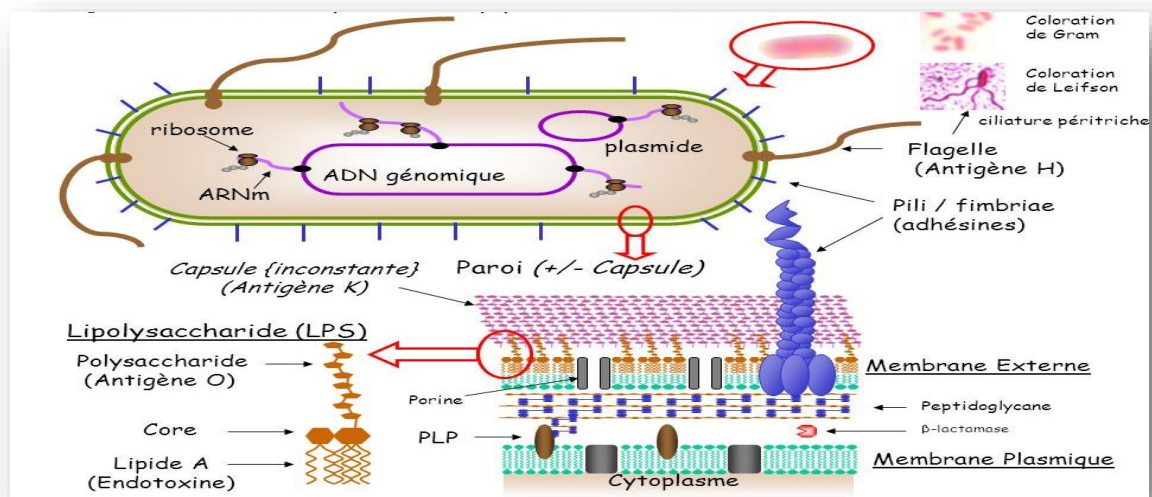
### 7.3. Antigènes capsulaires K

Ces antigènes dérivés de l'enveloppe sont souvent composés d'une couche polysaccharidique externe. Parmi les antigènes K se trouvent les antigènes L, A et B d'*E. coli* ainsi que l'antigène Vi de certaines espèces de *Salmonella*. Ces antigènes peuvent rendre l'échantillon qui les contient insoluble dans les anticorps O.

Ce sont des antigènes solubles et thermolabiles qui sont détruits par une ébullition de deux heures. Les antigènes d'adhésion ou liés à l'adhésion d'origine protéique associés à la présence de pili sont catégorisés comme antigènes K.

### 7.4. L'antigène Kunin

Cet antigène est commun des Enterobacteriaceae, à l'exception de certaines *Erwinia*. Il est typiquement hapténique et non immunogène, mais il a la capacité d'activer les hématies .Sa version immunogène se trouve dans des souches rares, telles que *E. coli* O: 14 (Joly et Reynaud, 2002).



**Figure 04 :** Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae (Denis et al., 2007)

## 8. Pouvoir Pathogène

En raison de différents mécanismes pathogènes, les entérobactéries sont à l'origine d'une large gamme de maladies gravitationnelles (**Livermor, 1995**).

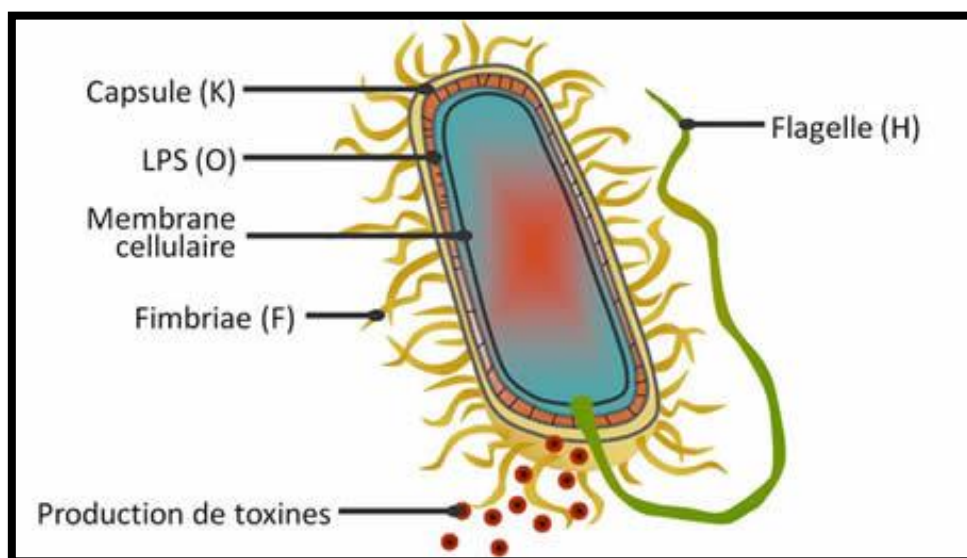
### 8.1. *Escherichia*

Cette capacité découle de la production d'un ou plusieurs facteurs de virulence qui permettent de différencier les souches commensales des souches pathogènes. La progression d'un nombre spécifique d'étapes traditionnelles et le contact du pathogène avec son hôte sont des prérequis pour le développement de la pathogénicité. Ces étapes sont :

1. La colonisation de la surface des muqueuses.
2. Le franchissement.
3. La résistance de la défense interne de l'hôte.
4. La génération d'un effet toxique.

Trois principales formes d'antigènes de surface sont présentes dans *E. coli*, et elles font partie des caractéristiques basées sur leur potentiel pathogène :

- ✓ Antigènes somatiques (Ag O) .
- ✓ Antigènes flagellaires (Ag H) .
- ✓ Antigènes de surface (Ag K) ( **Passor et Vounba, 2018**).



**Figure 05 :** Morphologie et structure d'*E. coli* ( **Passor et Vounba, 2018**)

**Tableau 04:** Sérotypes des *E. coli* pathogènes chez l'homme (Passor et Vounba, 2018)

| Affections   | Sérotypes les plus associés   |
|--|---|
| Diarrhée aqueuse aigüe   | O6, O8, O15, O20, O25, O27, O78, O86, O126, O127, O128, O146, O159, O169                                  |
| Diarrhée aqueuse et syndrome dysentérique                      | O28, O124, O152, O164, O159   |
| Diarrhée aqueuse aigüe, colite hémorragique et SHU             | O157 :H7, O104 :H4, O103:H25, O111, O8, O91   |
| Diarrhée aigüe ou persistante                                  | O6, O18, O26, O55, O114, O119, O125, O127, O128, O153, O166   |
| Diarrhée chronique   | O6, O8, O15, O18, O25, O27, O44, O86, O119, O126, O127, O146, O153, O158, O159, O166, O168, O169          |
| Diarrhée aqueuse, colique abdominale, vomissement et/ou fièvre | O55 :H27, O128 :H12, O78 :H11, O86, O25 :H1, O34, O92 :H33, O86 :H18, O99 :H4, O95, O86 :H11, O3 :H2, O92 |
| Cystites et pyélonéphrites                                     | O1, O2, O4, O6, O7, O8, O9, O16, , O25, O75, O18:K1:H7, O6:K2:H1, O6:K15:H31                              |

---

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Méningites néonatales | O18:K1:H7 et plus généralement les souches portant l'antigène capsulaire K1 |
|-----------------------|---|

---

## 8.2. *Shigella*

Les *Shigella* sont définitivement des bactéries humaines. Ils ne font pas partie de la flore intestinale typique. Ces bactéries ne se trouvent pas partout ; elles affectent principalement les malades, les convalescents et les rares porteurs sains. Elles étaient blâmées pour leur rôle dans les épidémies de dysenterie bacillaire, une maladie dévastatrice qui décimait les armées en action. Aujourd'hui, ils restent une cause majeure de colite infectieuse chez les adultes et de gastro-entérite sévère chez les enfants. Leurs symptômes sont particulièrement graves, incluant des diarrhées sanglantes et enflées, une forte fièvre et une déshydratation sévère. De plus, ils causent des micro-ulcération dans l'intestin, endommageant la paroi du côlon (Le Minor et Veron, 1989).

## 8.3. *Salmonella*

Les infections à *Salmonella* peuvent se manifester sous trois catégories de symptômes cliniques :

- ✓ Formes septicémiques : ce sont les fièvres typhoïdes et para-typhoïdes qui sont des maladies nécessitant une déclaration obligatoire sont causées par des souches majeures de salmonelles : *S. typhi* et *S. paratyphi* A, B et, exceptionnellement, C. Ces souches n'ont été trouvées que chez l'homme, qui est leur seul hôte.
- ✓ Formes digestives : ce sont les toxi-infections alimentaires et les gastro-entérites causées aux salmonelles communes, dont les hôtes naturels sont les animaux, susceptibles de provoquer une contamination humains.
- ✓ Formes extra-digestives : celles-ci sont moins fréquentes : infections urinaires, méningites, infections pulmonaires (Avril et al. 1992 ; Flandrois, 1997).

## 8.4. *Yersinia*

Quatre-vingts souches de *Yersinia enterocolitica* et espèces apparentées ont été isolées de porcs abattus ou de produits porcins, et il a été confirmé qu'elles possédaient une virulence

liée au phénotype à l'aide de 12 tests in vivo et in vitro . Ces isolats peuvent être largement classés en deux groupes :

1. les souches qui appartiennent aux biosérotypes pathogènes de *Y. enterocolitica* et qui sont confirmées comme virulentes selon la majorité des tests.
2. les souches qui appartiennent au biotype 1A de *Y. enterocolitica* et qui ne sont pas virulentes selon la majorité des tests effectués. Aucun test spécifique n'a prouvé être un indicateur fiable de la pathogénicité.

Toutes les souches de *Y. enterocolitica* appartenant au sérotype O:1, 2,3 étaient positives pour la pyrazinamidase (un indicateur de non-virulence) et n'étaient pas auto agglutinables, mais elles ont été positives pour la virulence dans tous les autres tests.

Bien que ces deux tests mesurent l'hydrophobicité de la surface, le développement des agrégats de sels s'est révélé être un indicateur de virulence plus fiable que l'agglutination des particules de latex. Dans l'ensemble, c'est le pouvoir invasif en culture cellulaire qui s'est avéré être l'indice de sélection le plus fiable pour une sous-population potentiellement virulente de *Y. enterocolitica*. D'autre part, la virulence peut être prédite avec précision au moment du test de virulence grâce aux mesures de liaison entre le rouge Congo et le cristal violet (**Canadian Journal of Microbiology February , 1992**).



# **Chapitre II :**

## **Les coprocultures**

### 1. Définition

Une étape de l'examen microbiologique des selles consiste à les incuber dans divers milieux de culture pour révéler plusieurs organismes pathogènes (bactéries, virus ou parasites) qui peuvent être la cause d'infections digestives (**Baron et al ; 2013**).

### 2. Objectif de coproculture

Trouver une flore commune qui est extrêmement abondante, des bactéries qui sont généralement absentes et connues pour être pathogènes, ou une espèce bactérienne qui est anormalement répandue (**Rinninella et al ; 2019**).



**Figure 06 :** Résultats de la coproculture sur milieu Hektoen (**Forster, 2019**)

### 3. Indication de la coproculture

- Enquêter sur la cause infectieuse la plus courante de la diarrhée.
- Dépister les germes au niveau des coprocultures.
- Mener des enquêtes épidémiologiques.

Parmi les bactéries détectées dans le cas des diarrhées infectieuses sont :

- *Salmonella*
- *Shigella*

- *Campylobacter*
- *Yersinia* (Havelaar, 2015).

#### 4. Résultats normaux et anormaux d'une coproculture

##### ✓ Résultats normaux d'une coproculture

Lorsque la flore saprophyte ne représente aucune menace pour l'organisme, les résultats sont considérés comme normaux.

Une flore ordinaire abrite environ 400 espèces bactériennes différentes. Il est considéré comme normal lorsqu'il est composé de germes non pathogènes :

- 50-70 % Bactéries à Gram-négatif.
- 30-50 % à Gram-positif.
- Pas de globules blancs (leucocytes) ou rouges (hématocrite).
- Absence de germes pathogènes (Murray et al ;2021).

##### ✓ Résultats anormaux d'une coproculture

Une dizaine de bactéries sont responsables de la diarrhée infectieuse. La salmonelle est la cause la plus courante de diarrhée bactérienne d'origine alimentaire.

Cependant, la majorité des diarrhées sont d'origine virale, et la coproculture n'est efficace que dans moins de 15 % des cas (Riddle,2016).

#### 5. Bactéries pathogènes trouvés dans les selles

##### ✓ *Escherichia coli*

L'une des principales causes de la diarrhée aiguë. Cette bactérie continue de causer une mortalité significative dans les pays en développement. La diarrhée peut révéler des caractéristiques cliniques clés, qui peut se manifester par un syndrome cholérique, accompagné de beaucoup de diarrhée, aqueuse ressemblant à du riz. Cette diarrhée sans fièvre, dure souvent quelques jours et est fréquemment accompagnée de vomissements (gastro-entérite). Le mal de ventre peut prendre une tournure dramatique chez les nourrissons en raison de la déshydratation qu'elle provoque.

D'autre part, on peut observer un syndrome dysentérique, qui comprend la fièvre, des douleurs abdominales intenses, des crampes et un ténesme.

✓ **Shigella**

La période d'incubation est courte, quelques heures à 3 jours après l'ingestion du germe.

Le début est terrible, marqué par l'apparition de la fièvre, des douleurs abdominales et des crampes. La manifestation de la diarrhée 2 jours après le début clinique.

Le syndrome de dysenterie se caractérise par des douleurs abdominales, des crampes, la fièvre et surtout une diarrhée à fécale, mucoïde et polynucléaire.

✓ **Salmonella**

L'infection se transmet par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés d'origine animale avec un taux d'infection élevé. Pendant la courte période d'incubation, les bactéries infectent les cellules épithéliales de la paroi intestinale puis envahissent la sous-muqueuse, provoquant une réaction inflammatoire dans les tissus du tractus digestif.

Contrairement à la fièvre typhoïde, les bactéries restent dans les ganglions lymphatiques sous-muqueux et mésentériques et sont ensuite détruites par les phagocytes.

La réaction inflammatoire résultante affecte l'iléon et le cæcum, provoque la fièvre, des douleurs abdominales, des vomissements et de la diarrhée, parfois avec des leucocytes et du sang dans les selles en raison des petites ulcérations de la muqueuse.

✓ **Yersinia**

L'entérite est plus fréquente avec *Yersinia enterocolitica*. L'entérite est la plus courante chez les enfants de moins de cinq ans et se caractérise par une diarrhée, la fièvre (38, 38.5°C), des vomissements, des douleurs abdominales le long du côlon ou dans la fosse iliaque droite, et un nombre modéré de neutrophiles. En l'absence de traitement, il y a une émission fréquente et prolongée de selles. L'examen microscopique des selles révèle généralement la présence d'hématies et de leucocytes dans la matière fécale, indiquant un processus infectieux (Berche et al., 1988).

# **Chapitre III :**

## **La résistance aux antibiotiques**

### 1. Définition des antibiotiques

Antibiose : un terme introduit en 1889 par Vuillemin (France) pour désigner cette condition dans laquelle un microorganisme détruit un autre (**Paolozzi et Liebart, 2015**). Les substances antimicrobiennes peuvent être des synthèses chimiques d'antibiotiques naturels ou par modification d'antibiotiques disponibles ; elles sont définies comme ces substances qui ont des effets inhibiteurs spécifiques sur d'autres microorganismes par des mécanismes qui peuvent impliquer des processus vitaux dans le germe (**Gogny, 2001**) (bactériostatique). Pour qu'un antibiotique exerce son effet, il doit pénétrer dans la bactérie, y rester sans être détruit ou modifié, se lier à une cible et altérer la physiologie de la bactérie (**Ogwara, 1981**) (bactéricide = mort cellulaire).

### 2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques repose sur plusieurs critères :

- Mode d'action : action sur la paroi, la membrane cytoplasmique ....
- Spectre d'activité : sur les cocci à Gram positif, les cocci à Gram négatif ou autres.
- Origine de la molécule : naturelle, synthétique ou semi synthétique.
- Structure chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (exemple : cycle  $\beta$ -lactame) (**Brahmia et al., 2016**).

**Tableau 05 : 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, glucosamine ou glucose)                                  | Téicoplanine, vancosamine, vancomycine                              |
| Tétracyclines            | Noyau naphtalène<br>Carboxamide tétracyclique<br>lié à des substituants en position 5, 6, 7             | Tétracycline  |
| Macrolides et apparentés | Anneau macrolactonique modifié par un ou plusieurs sucres   | Érythromycine<br>Clarithromycine<br>Roxithromycine<br>Azithromycine |
| 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   | Sulfamide   |
| Triméthoprim             | diaminopyrimide   | Inhibiteur compétitif la dihydrofolate-réductase                    |
| Polymyxines              | Antibiotiques peptidiques cycliques   | Polymyxines B et E  |

### 3.Mode d'action

La synthèse de chaque antibiotique a un emplacement d'action spécifique, et elles sont généralement identifiées pour les structures et fonctions bactériennes comme :

- Paroi cellulaire (peptidoglycane) : inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne ( $\beta$ -lactamines, fosfomycine, glycopeptides).
- Membrane cytoplasmique : inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines).
- Le chromosome : la synthèse de l'ADN est inhibée par les quinolones et les rifampicines.
- La synthèse des protéines : (tétracyclines, aminosides, macrolides) est inhibée par le ribosome (Talbert et al., 2015).

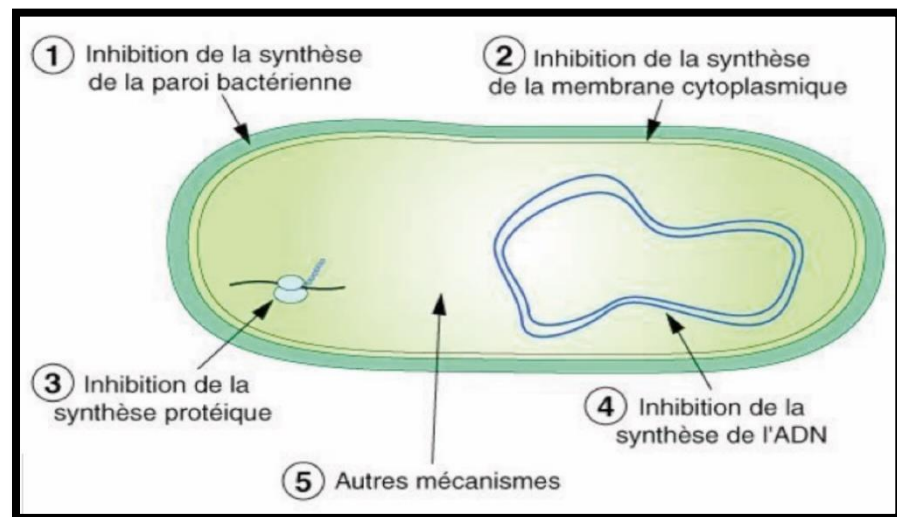


Figure 07 : Cibles des antibiotiques (<https://devsante.org/articles/antibiotiques>)

#### 4. Association des antibiotiques

- Indifférence : La présence d'un antibiotique n'influence pas le fonctionnement de l'autre. De plus, l'action due à l'association est égale à l'addition des actions de chaque antibiotique étudié séparément à la même concentration que celle de l'association.
- Synergie : L'effet global est bien plus grand que la somme des effets de chaque antibiotique étudié séparément à la même dose.
- Antagonisme : La combinaison réduit l'activité d'un ou des deux antibiotiques en dessous de la somme de leurs effets pris séparément (Courvalin et Leclerc, 2011).

#### 5. Définition de l'antibiogramme



Le standard antibiogramme est un test *in vitro* qui utilise la technique de diffusion sur des milieux gélosés pour déterminer la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques.

Son objectif est d'aider les cliniciens à choisir un antibiotique pour traiter les infections bactériennes, d'utiliser les données pour surveiller les bactéries résistantes aux antibiotiques, et de fournir une indication supplémentaire pour l'identification des germes en mettant en évidence les résistances naturelles ( **Humphries et al ., 2021**)

## 6. Définition de l'antibiorésistance

Lorsqu'un changement dans le capital génétique d'une souche lui permet de résister à des concentrations d'antibiotiques nettement plus élevées que celles qui empêchent la croissance de la plupart des autres souches de la même espèce *in vitro*, connues sous le nom de sensibles, la souche est dite résistante à l'antibiotique ( **Guerin et Fauble , 2010**)

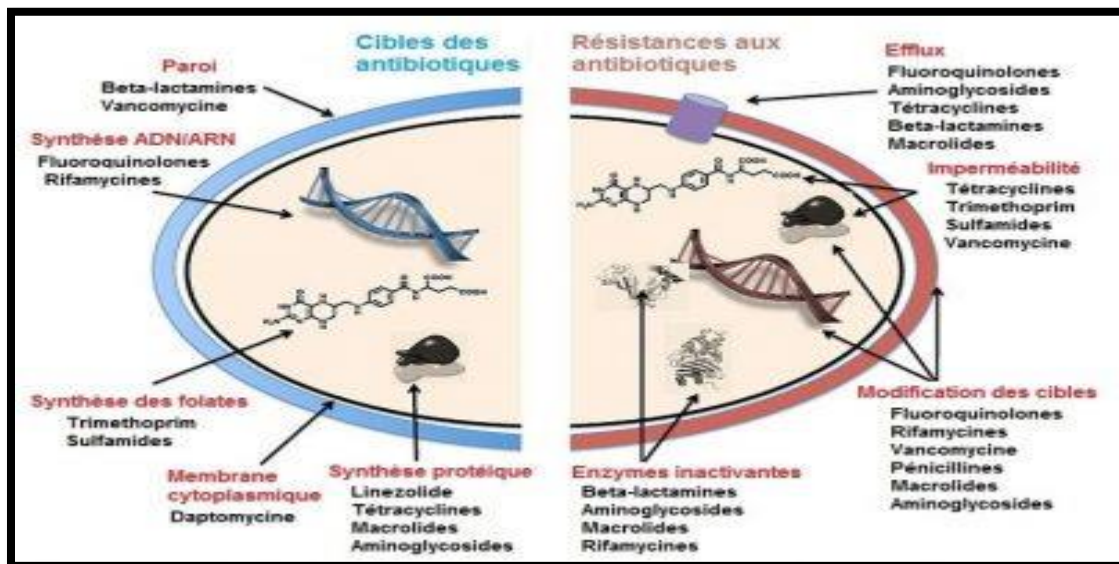


Figure 08: Cibles et résistances aux antibiotiques (<https://www.encyclopédie-environnement.>)

## 7.Types de l'antibiorésistance

### 7.1. Résistance naturelle

Résistance Naturelle est le seul caractère qui affecte tous les membres de l'espèce. Interne signifie qu'elle porte le chromosome dans la cellule sur une transmission verticale stable pendant la division cellulaire. Cependant, il n'est généralement pas transféré d'une bactérie à une autre (transmission horizontale) (**Lozniewski et Rabaud, 2010**).

Il détermine par rapport à tout antibiotique le phénotype sauvage référé à l'espèce. *Klebsiella pneumoniae*, par exemple, est naturellement résistante aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines (comme l'amoxicilline) en raison des pénicillinases qui se séquestrent à cause de faibles niveaux de pénicillinase naturelle.

La résistance naturelle des entérobactéries inclut les lincosamides, les synergistines, les glycopeptides, macrolides ainsi que les antibiotiques spécifiques G et M. Ils sont généralement sensibles aux aminosides (kanamycine, gentamicine, tobramycine, amikacine et netilmicine), aux bêta-lactamines, aux phénicols, tétracyclines, sulfonamides, triméthoprim, nitrofuranes, à la fosfomycine et à la colistine (Pina et al., 2000).

## 7.2. Résistance acquise

La résistance acquise ne concerne pas des souches particulières de bactéries au sein d'une espèce. C'est un phénomène vaste qui varie selon le temps et le lieu. Moins stable, moins visible, évoluant et observable à la fois in vivo et in vitro pour la majorité des combinaisons bactéries-antibiotiques connues, elle est généralement le résultat d'un changement dans le réservoir génétique bactérien (Lozniewski et Rabaud, 2010). Génétiquement, la résistance peut être acquise de deux manières très différentes : soit par l'acquisition de gènes étrangers (résistance extrachromosomique), soit par mutation affectant des gènes préexistants sur le chromosome (résistance chromosomique). Le principal mécanisme par lequel les gènes de résistance se propagent dans le monde bactérien est le transfert horizontal (Galimand et al., 2005), responsable de 80 % de tous les cas de résistance aux antibiotiques observée en médecine humaine. La plupart du temps, les plasmides, les transposons ou les éléments génétiques mobiles transportent les gènes lors du transfert (Ploy et al., 2005).

## 8. Mécanisme de résistance des entérobactéries

### 8.1. Mécanisme de résistance aux $\beta$ -lactamines

#### • Diminution de la perméabilité

Le passage des  $\beta$ -lactamines à travers la membrane externe se fait par les porines, qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. La sensibilité aux  $\beta$ -lactamines est déterminée par le nombre de porines fonctionnelles. Les mutations dans les porines provoquent une résistance aux  $\beta$ -lactamines, soit par des modifications structurelles d'une porine essentielle, comme on le voit dans *E. coli*, soit par une diminution de la quantité de porines, ce qui est le scénario le plus courant (Chekroud et Fathi, 2017).

- **Hyperproduction de système d'efflux**

Les protéines transmembranaires présentes à la fois dans les membranes plasmique et la membrane externe des bactéries à Gram négatif, telles que les entérobactéries (**Boucefiane et Slimi, 2019**) , sont responsables de l'efficacité du système d'efflux actif .Les mutations dans les régions qui régulent les opérons des systèmes d'efflux multi-drogues peuvent entraîner la surexpression des systèmes d'efflux constitutifs, qu'ils soient ou non liés à une perte de porines, et conférer une multirésistance aux antibiotiques (**Chekroud et Fathi 2017**) .

- **Modification des PLP**

Cette résistance peut résulter de modification des codants chromosomiques pour les PLP ou de l'acquisition de codants étrangers pour de nouvelles PLP avec une affinité différente pour les  $\beta$ -lactamines .

- **Production de  $\beta$ -lactamase**

Les  $\beta$ -lactamases se trouvent dans l'espace périplasmique des bactéries à Gram négatif. Ils hydrolysent les  $\beta$ -lactamines en sortant du cycle  $\beta$ -lactame et en provoquant la perte d'un groupe carboxyle, ce qui rend l'antibiotique inactif.

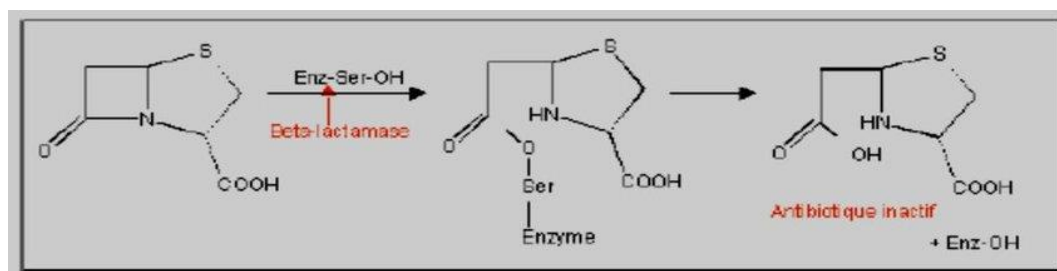
Les  $\beta$ -lactamases catalysent efficacement et de manière irréversible l'hydrolyse du pont amide  $\beta$ -lactame des pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes pour produire un enzyme acyle qui est ensuite décomposé en acide inactif.

En conséquence, les céphalosporines se dégradent en acide céphalosporoïque et les pénicillines en acide pénicilloïque. (**Gadou ,2017**).

- **Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)**

Les bactéries avec BLSE sont connues sous le nom de bactéries multi résistantes ; elles sont composées d'une classe d'enzymes ayant une large gamme d'activités pouvant hydrolyser les pénicillines, toutes les générations de céphalosporines, elles sont inhibées par l'acide clavulanique (**Gangou, 2007**) .

Il s'agit d'un mécanisme de résistance de type plasmide qui est donc transmissible à d'autres bactéries. *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont fréquemment les deux espèces d'entérobactéries qui portent le plus ces mécanismes de résistance (**Lagha, 2015**).



**Figure09** : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame  
(Lagha, 2015)

### 8.2. Mécanisme de résistance aux aminosides

La résistance des bactéries à cette famille d'antibiotiques est devenue un problème de santé publique sérieux. Le principal mécanisme de résistance aux aminoglycosides est l'acquisition d'enzymes bactériennes inactivatrices qui altèrent les antibiotiques : phosphotransférases (APH), nucléotidyltransférases (ANT) et acétyltransférases (AAC), qui catalysent respectivement la phosphorylation des groupes hydroxyles (OH), la nucléidylation des groupes

hydroxyles et l'acétylation des groupes amines ( $\text{NH}_2$ ). La majorité de ces enzymes sont codées par des gènes portés sur des plasmides. (Fauchère, 1997).

### 8.3. Mécanisme de résistance aux quinolones

La résistance aux antibiotiques se développe selon une combinaison de mécanismes. Les mécanismes de résistance chromosomique aux quinolones, au-delà de 30 ans, étaient les seuls connus (Skurnik et Andremont, 2006).

Les Mutation dans la région déterminant la résistance aux quinolones (QRDR) entraînant :

- ✓ une perte d'affinité de l'antibiotique pour sa cible.
- ✓ Excrétion extracellulaire plus importante (surexpression des systèmes d'efflux).
- ✓ Diminution de la perméabilité transmembranaire par manque de synthèse de porines, quantitatives ou qualitatives (Nordmann, 2007).

En 1998, (Martinez et al). ont décrit la première souche (*Klebsiella pneumoniae* UAB1) avec un plasmide transférable (pMG252) comme support de résistance. Le gène responsable de cette résistance est qnr, qui peut être porté par de nombreuses formes d'intégrons. La valeur de

ce support réside dans sa transférabilité et sa capacité à accélérer la propagation de la résistance aux quinolones. Les gènes *qnr* codent des protéines qui protègent les topoisomérases des quinolones. Cependant, plusieurs types de gènes *qnr* (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* et *qnrS*) ont été décrits avec diverses variations. Les gènes *qnr* ont été trouvés dans de nombreuses espèces d'Entérobactéries et sont souvent liés à la génération de  $\beta$ -lactamases à large spectre (**Guessennd et al., 2008**).

**Tableau 06:** Les mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotique (Li et Nikaido, 2004).

| Antibiotique  | Cible bactérienne       | Mécanismes de résistance |                       |                           |              |
|---|-------------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------|
|   |                         | Mécanismes de résistance | Modification de cible | Imperméabilité cellulaire | Efflux actif |
| Inhibition de la synthèse de la paroi (peptidoglycane)  |                         |                          |                       |                           |              |
| β-lactamines  | PLP                     | +++                      | ++                    | ++                        | ++           |
| Glycopeptides   | Précurseurs D-Ala-D-Ala |                          | +++                   |                           |              |
| Inhibition de la synthèse protéique                     |                         |                          |                       |                           |              |
| Aminosides  | ARN ribosomal 30S       | +++                      | ++                    | +                         | +            |
| MLS   | ARN ribosomal 50S       | +                        | +++                   |                           | ++           |
| Tétracyclines   | ARN ribosomal 30S       |                          | ++                    |                           | +++          |
| Phénicolés  | ARN ribosomal 30S       | ++                       |                       |                           | ++           |
| Oxazolidinones  | ARN ribosomal 30S       |                          | ++                    |                           |              |
| Inhibition de la synthèse ou de fonctionnement de l'ADN |                         |                          |                       |                           |              |
| Fluoroquinolones  | Topoisomérase s         |                          | +++                   |                           | ++           |
| Sulfamides  | DHFS                    |                          | ++                    |                           | +            |
| Triméthoprimés  | DHFR                    |                          | ++                    |                           | +            |

# **Matériel et Méthodes**

### 1 Lieu et durée de l'étude

#### 1.1 Centre d'étude

Notre étude a été réalisée au sein de l'unité de la bactériologie de laboratoire d'hygiène de Daksi de la wilaya Constantine.

#### 1.2 Durée et type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective des prélèvements des selles qui consiste à réaliser une coproculture des selles pour l'isolement et l'identification de certaines entérobactéries pathogènes (*E. coli*, *Shigella*, *Salmonella* et *Yersinia*) et la détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques.

### 2. Matériel

#### 2.1 Milieux de culture et réactifs

- Gélose Hecktoen .
- Mac Conkey.
- Gélose Mueller Hinton.
- TSI (triple sugar iron agar).
- Milieu Mannitol-Mobilité.
- Milieu Citrate de Simmons.
- Milieu Urée –indole.
- Bouillon Sélénite simple et double concentré.
- Eau peptonée exempte d'indole.
- Disques d'ONPG.
- Disques d'oxydases
- Réactif : TDA, RM, VP1, VP2 et réactif de Kovacs
- Solution KOH à 5%.
- Galeries API 20E.



### **3. Méthodes**

#### **3.1 Mode de prélèvement**

Le recueil de selles se fait par le malade dans un pot stérile et transporté au laboratoire dans les 2 heures qui suivent sinon on les conserve au réfrigérateur 12 heures maximum.

Pour les nourrissons, les selles sont recueillies directement de la couche ou bien par un écouvillonnage rectal

#### **3.2 Services et origines des souches**

Les prélèvements ont été adressés au laboratoire en cas d'épidémie d'intoxication sur demande médicale, analyse systématique de prison, de police et de militaire.

Les prélèvements reçus à la pailasse de microbiologie sont accompagnés d'une fiche de renseignement qui comporte : nom et prénom, nature de prélèvement, date de prélèvement, service en cas d'hospitalisation. (**Annexe 04**)

#### **3.3 Examen macroscopique des selles**

Après la création des conditions d'asepsie, pour une première étape on note les différents caractères macroscopiques : la couleur et la consistance.

|             |   |
|-------------|---|
| Couleur     | Jaune, noire, marron, transparente.                           |
| Consistance | Molle, diarrhéique, glaireuse , liquide , contenant du sang . |

### **3.4 Enrichissement et isolement**

Les microorganismes à rechercher sont présents en faible quantité dans l'échantillon à examiner donc il faut utiliser des milieux liquides d'enrichissement pour favoriser leur multiplication avant l'isolement et l'identification.

#### **✓ *E. coli***

L'isolement direct d'*E. coli* se fait sur milieu Hektoen .

#### **✓ *Salmonella et Shigella***

La recherche de *Salmonella* et *Shigella* nécessite un prés-enrichissement sur bouillon sélénite de sodium simplement concentré, incubé à 37C° pendant 24 heures puis 1ml est prélevé et est mis dans le bouillon d'enrichissement sélénite doublement concentrée ,l'incubation se fait à 37C° pendant 24 heures , ainsi une öse du bouillon d'enrichissement est déposée par des stries sur milieu Hektoen au préalable coulé dans des boites de pétri puis incubé à 37C° pendant 24 heures .

#### **✓ *Yersinia enterocolitica***

L'enrichissement se fait sur eau peptonée exempte incubée pendant 7 , 15et 21 jours puis on réalise une décontamination par une solution de KOH 5% , on laisse pendant quelques secondes puis on ensemence sur gélose Mac Conkey . L'incubation se fait à 37C° pendant 48 heures .

### **3.5 Examen macroscopique des colonies**

Pour les cultures positives, l'examen macroscopique des selles permet une orientation primaire avant la confirmation par examen microscopique et tests biochimiques.

Les principaux critères analysés sont :

- La forme des colonies.
- La taille des colonies.
- La couleur des colonies.
- L'élévation.
- L'opacité.
- La surface .

### **3.6 Examen microscopique**

#### **3.6.1 Coloration de Gram**

Permettant de différencier les bactéries en deux grands groupes (Gram positif, Gram négatif), en fonction de la structure de leur paroi cellulaire. (**Annex01**)

### **3.7. Identification biochimique**




#### **3.7.1 Galerie classique**



Permet de caractériser les bactéries en étudiant leurs activités enzymatiques et leurs capacités métaboliques. Elle complète la coloration de Gram et l'examen macroscopique pour une identification précise. (**Annex02**)

**Tableau 07** : tests biochimiques de la Galerie classique.

| Milieu  | Ensemencement  | incubation   | Lecture   |
|---|--|--|---|
| <b>Oxydase</b><br>   | Utiliser une pipette Pasteur pour ajouter une goutte de la suspension bactérienne pure sur le disque d'oxydase.  | Quelques secondes                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Coloration violette : test positif, donc la présence d'une cytochrome oxydase</li> <li>✓ Absence de coloration : test négatif.</li> </ul>  |
| <b>Catalase</b><br> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ajoutez 4 à 5 gouttes d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3 % dans un tube à essai.</li> <li>2. Inoculez le tube avec une colonie bactérienne à l'aide d'une anse stérile.</li> </ol> | Quelques secondes                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Présence de bulles : test positif, donc la présence de catalase .</li> </ul> $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{O}_2$ <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Absence de bulles : test négatif .</li> </ul> |
| <b>ONPG</b><br>    | Déposer dans une suspension bactérienne le disque ONPG.  | Incuber au bain-marie à 37°C pendant 15 à 30 minutes . | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ ONPG positif : couleur jaune.</li> </ul> $\text{Osido} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{galactose} + \text{autre ose}$ <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ ONPG négatif : pas changement de couleur .</li> </ul>                        |

## Matériel et Méthodes

|  |  |   |  |
|--|--|---|--|
| <p><b>Acides aminées<br/>(LDC,ODC,ADH)</b></p>  | <p>Ajouter une goutte de suspension bactérienne dans chaque tube d'acide aminée (LDC, ODC ,ADH)</p>  | <p>Incuber à 37C° pendent 24 heures .</p>                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ ADH (+) : couleur rouge ou rose .</li> <li>✓ ADH(-) : couleur jaune</li> <li>✓ LDC(+) : rouge ou orange</li> <li>✓ LDC(-) : jaune</li> <li>✓ ODC(+) : rouge</li> <li>✓ ODC(-) : jaune</li> </ul>  |
| <p><b>TSI</b></p>                               | <p>A l'aide d'une anse de platine on prélève une suspension bactérienne et ensemencé la pente par stries séries et le culot par piqure centrale.</p> | <p>Avant l'incubation dégazer le tube.<br/>Incuber à 37C° pendent 24heures.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Le culot jaune : la bactérie fermente le glucose.</li> <li>✓ Ne change pas la couleur du culot :<br/>La bactérie ne fermente pas le glucose.</li> <li>✓ La pente jaune : la bactérie fermente le lactose et ou saccharose.</li> <li>✓ Ne change pas la couleur de la pente : la bactérie ne fermente pas le lactose et ou saccharose</li> <li>✓ La production d'H<sub>2</sub>S se traduit par un précipité noire .</li> </ul> |
| <p><b>Citrate de Simmons</b></p>              | <p>A l'aide de pipette pasteur par des stries séries .</p>   | <p>24h à 37C°</p>   | <p>La culture bactérienne sur la gélose indique que la bactérie utilise le citrate comme seul source de carbone. La couleur bleu par la libération de l'ammoniaque .</p>   |

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
| <b>Mannitol-Mobilité</b><br><br> | Par pique centrale à l'aide de pipette pasteur.                   | 24H à 37C°   | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Couleur jaune : la bactérie fermente le mannitol ce qui aboutit à l'acidification du milieu.</li> <li>✓ Ne change pas de couleur : la bactérie ne fermente pas le mannitol.</li> <li>✓ Mobilité (+) : diffusion sur toute la masse.</li> <li>✓ Mobilité (-) : La bactérie pousse autour de la pique.</li> </ul> |
| <b>Urée-Indole</b><br><br>      | Ajouter une goutte de la suspension bactérienne dans le bouillon. | 24H à 37C°<br>Après l'incubation <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ajouter le réactif de Kovacs pour l'indole.</li> <li>• Ajouter de chlorure de Fer III pour TDA.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ La couleur rouge indique la dégradation de l'urée.</li> <li>✓ Un anneau rouge à la surface du bouillon indique la production de l'indole.</li> <li>✓ Un précipité brun foncé indique la désamination du tryptophane.</li> </ul>   |

### 3.7.2 Galerie API 20E

Un système de galerie miniaturisée et standardisée pour l'identification des entérobactéries et d'autres bacilles à Gram négatif. Permet une identification biochimique rapide et fiable des bactéries. (**Annexe 03**)

#### ✓ Principe

La galerie API 20E comprend 20 microtubes contenant des substrats desséchés. Ces substrats permettent de tester différentes réactions biochimiques (fermentation, décarboxylation, hydrolyse, etc.) après inoculation avec une suspension bactérienne. Les résultats sont interprétés après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C.



**Figure 10** : la galerie API20E avant l'inoculation.

#### ✓ Préparation de l'inoculum

- Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé .
- Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle Mc Farland).

#### ✓ Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

#### ✓ Inoculation de la galerie

Mettre la pointe de la pipette pasteur sur le côté de la cupule pour échapper la création des bulles d'aires.

- Les tests CIT, VP , GEL : remplir les tubes et cupules.
- Les tests ADH , LDC , ODC , H2S , URE : ajouter huile de vaseline pour la création d'anaérobiose.
- Les tests qui reste remplir les micro tubes .Placer le couvercle et incuber la galerie pendant 24 h à 37°C.

#### ✓ Lecture

Après l'incubation :

- Ajouter le réactifs VP1+VP2 pour le test VP.
- Ajouter le réactif de la TDA pour le test TDA.
- Ajouter le réactif de KOVACS pour le test indole.
- L'identification se fait à l'aide d'un catalogue ou de banque d'identification .

### 3.8 Antibiogramme

Un antibiogramme est un test qui permet de déterminer la sensibilité ou la résistance d'une bactérie à différents antibiotiques. Il est essentiel en microbiologie médicale pour guider le choix du traitement antibiotique le plus efficace, surtout en cas d'infection bactérienne.

#### ✓ Principe

Cette méthode s'effectue en plaçant un milieu gélosé inoculé avec une culture bactérienne à proximité d'un disque de l'antibiotique dont on veut mesurer l'activité, et donc la concentration en bordure de la zone d'inhibition correspond à la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'antibiotique pour les souches bactériennes testées.

#### ✓ Importance

- Sélectionner un antibiotique adéquat permettant de guérir une infection.
- Ne pas utiliser d'antibiotiques de façon inappropriée pour ne pas favoriser la sélection de résistances.
- Suivre la résistance aux antibiotiques des bactéries au plan local, national ou mondial.

#### ✓ Préparation du milieu

Une quantité adéquate de Mueller Hinton a été préparée et distribuée dans des boîtes de pétri d'une épaisseur de quatre millimètres. Avant son utilisation, il faut sécher le milieu.

#### ✓ Préparation du l'inoculum

À partir d'une culture bactérienne jeune de 18 et 24 heures, qui présente les caractères souhaités, à l'aide d'écouvillon, racler trois colonies proches en apparence de l'espèce microbienne à tester, décharger dans un tube à essais contenant exactement 10 ml d'eau distillée et homogénéiser jusqu'à l'obtention d'une suspension d'une turbidité de 0,5 Mc Farland.



### ✓ **Ensemencement**

1. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension.
2. Égoutter l'excès de liquide sur les parois du tube.
3. Ensemencer la gélose en 3 passages successifs :
  - D'abord dans un sens (horizontale),
  - Puis en tournant la boîte à 60° (diagonale),
  - Puis encore à 60° (verticale).
4. Faire tourner l'écouvillon sur les bords pour couvrir toute la surface.
5. Laisser sécher 3 à 5 minutes pour absorber l'humidité avant de déposer les disques.

### ✓ **Disques d'antibiotiques**

Les antibiotiques utilisés pour faire l'antibiogramme des entérobactéries :

Acide nalidixic (NA), Gentamicine (GN), Amoxycilline (AML), Cefixime (CFM), Cefazolin (CZ), Cefotaxime (CTX), Ampicilline (AMP), AMX+Acide clavulanique (AMC), Colistine sulphaté (CT), Chloromphénicol (C).

### ✓ **Disposition des disques d'antibiotiques**

- 1) Déposer délicatement des disques imprégnés d'antibiotiques sur la gélose à l'aide d'une pince stérile.
- 2) Bien espacer les disques pour éviter que les halos d'inhibition ne se chevauchent.
- 3) Appuyer légèrement sur chaque disque pour assurer le bon contact avec la gélose.
- 4) Incuber à 37°C pendant 24 heures

### ✓ **Lecture**

- Mesurer le diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque (en mm).
- Comparer les diamètres aux valeurs de référence fournies par les normes CLSI pour classer la souche en :
  - S (Sensible).
  - I (Sensibilité intermédiaire).
  - R (Résistant).

# **Résultats et discussion**

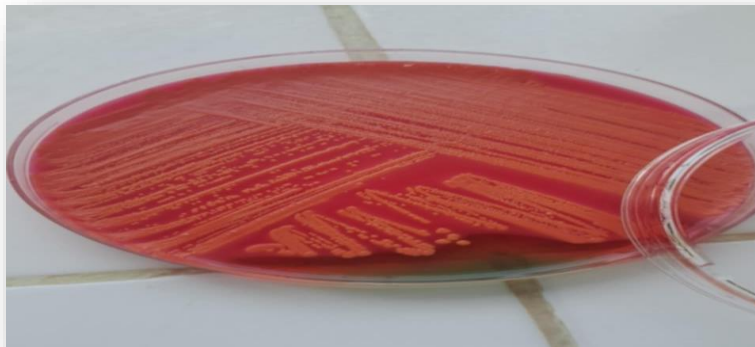
## Résultats

### 1. Aspects cultureux

#### 1.1 Examen macroscopique des colonies

##### ✓ *E. coli*

L'aspect des colonies d'*E. coli* sur milieu Hektoen est représenté dans la figure 11 qui montre des colonies orange avec une bord lisse et régulière, un centre uniforme sans noircissement et présentent une brillance notable, parfois légèrement muqueuses.



**Figure 11 :** Aspect macroscopique des colonies d'*E. coli* sur milieu Hektoen .

##### ✓ *Pseudomonas fluorescens*

L' aspect des colonies de *Pseudomonas fluorescens* sur milieu Hektoen est représenté dans le tableau 8 et dans la figure 12.

**Tableau 08 :** Aspect des colonies de *Pseudomonas fluorescens* sur milieu Hektoen.

| Caractéristique         | Description                    |
|-------------------------|--------------------------------|
| Fermentation du lactose | Non fermentantes               |
| Taille des colonies     | Petites à moyennes             |
| Surface                 | Lisse                          |
| Brillance               | Légèrement brillante ou humide |
| Bords                   | réguliers                      |



**Figure 12** : Aspect macroscopique des colonies *Pseudomonas fluorescens* sur milieu Hecktoen.

Le tableau 9 et la figure 13 montrent l'aspect des colonies *Pseudomonas fluorescens* sur milieu Mac Conkey .

**Tableau 09** : Aspect des colonies *Pseudomonas fluorescens* sur milieu Mac Conkey

| Caractéristique         | Description                         |
|-------------------------|-------------------------------------|
| Fermentation du lactose | Négative (non-fermentaire)          |
| Couleur des colonies    | Incolore ou légèrement beige        |
| Taille des colonies     | Moyennes à grandes.                 |
| Surface                 | Lisse, parfois légèrement brillante |
| Bords                   | Réguliers                           |
| Élévation               | Légèrement bombée                   |



**Figure 13** : Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas fluorescens* sur le milieu Mac Conkey .

✓ *Pseudomonas aeruginosa*

Le tableau 10 et la figure14 montrent l'aspect des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur le milieu Mac Conkey.

**Tableau10** : Aspect des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur milieu Mac Conkey.

| Caractéristique         | Description  |
|-------------------------|--|
| Fermentation du lactose | Ne fermente pas le lactose                           |
| Couleur des colonies    | Incolore, translucide ou légèrement verdâtre/bleutée |
| Taille des colonies     | Moyennes à grandes                                   |
| Surface                 | Lisse, brillante, parfois muqueuse                   |
| Bords                   | Réguliers  |
| Forme                   | Ronde  |



**Figure 14 :** Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur milieu Mac Conkey .

✓ *Aeromonas hydrophila*

L'aspect des colonies d'*Aeromonas hydrophila* sur milieu Mac Conkey est représenté dans le tableau 11 et dans la figure 15.

**Tableau11:** Aspect des colonies d'*Aeromonas hydrophila* sur milieu Mac Conkey.

| Caractéristique         | Description                         |
|-------------------------|-------------------------------------|
| Taille                  | Moyennes à grandes                  |
| Contour                 | Régulier                            |
| Surface                 | Lisse, brillante, parfois visqueuse |
| Relief                  | Bombé ou aplati                     |
| Couleur des colonies    | Incolores à légèrement rosées       |
| Fermentation de lactose | Non                                 |



**Figure 15 :** Aspect macroscopique des colonies d'*Aeromonas hydrophila* de sur milieu Mac Conkey .

✓ *Enterobacter cloacae*

Le tableau12 et la figure 16 résument l'aspect des colonies d' *Enterobacter cloacae* sur milieu Mac Conkey.

**Tableau12 :** Aspect des colonies d' *Enterobacter cloacae* sur milieu Mac Conkey.

| Caractéristiques        | Description                    |
|-------------------------|--------------------------------|
| Fermentation du lactose | Positive (fermente le lactose) |
| Couleur des colonies    | blanchatre                     |
| Taille                  | Moyennes à grandes             |
| Contour                 | Régulier                       |
| Surface                 | Lisse, brillante               |
| Relief                  | Bombé ou légèrement aplati     |



**Figure16 :** Aspect macroscopique des colonies de *Enterobacter cloacae* sur milieu Mac Conkey.

✓ *Salmonella* spp

Le tableau13 et la figure 17 montrent l'aspect des colonies de *Salmonella* spp sur milieu Mac Conkey.

**Tableau13 :** Aspect des colonies de *Salmonella* spp sur milieu Mac Conkey.

| Caractéristiques        | Description  |
|-------------------------|--|
| Fermentation du lactose | <b>négative</b>  |
| Couleur des colonies    | <b>Beige pale ou rose</b>  |
| Taille                  | <b>Moyennes à grandes (2–3 mm de diamètre après 24 h d'incubation)</b> |
| Contour                 | <b>Régulier</b>  |
| Relief                  | <b>légèrement bombée.</b>  |
| Surface                 | <b>Lisse.</b>  |





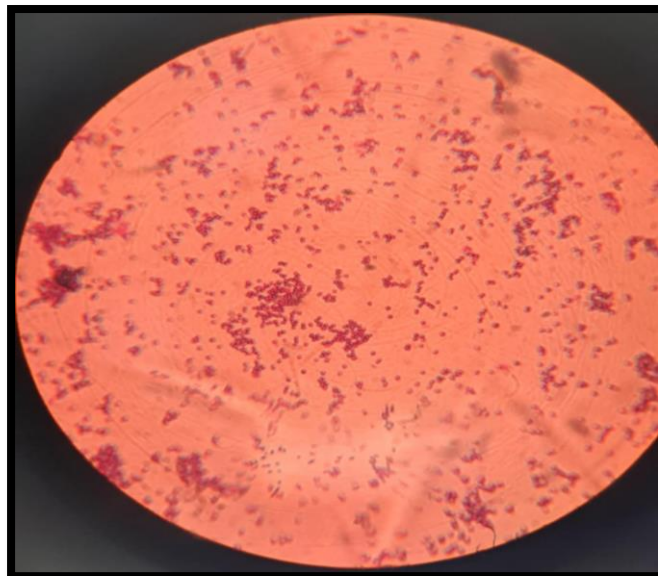
**Figure17 :** Aspect macroscopiques des colonies *Salmonella spp* sur milieu Mac conkey.

## 1.2 Examen microscopique des colonies

### ✓ Coloration de Gram

Après la coloration de Gram , l'observation microscopique se fait par l'ajout de huile à immersion et observation au grossissement « G x 100 » .

Le résultat obtenu de l'observation montre des bactéries à Gram négatif de couleur rose des bacilles ou des coccobacilles (figure 18).



**Figure 18:** Observation microscopique après coloration de Gram des bactéries à Gram négatif (G x 100).

### 1.3 Résultats de l'identification biochimique par galerie classique

- **Test oxydase**

La coloration violette révèle un résultat positif sur les disques d'oxydase. (figures 19 et 20)



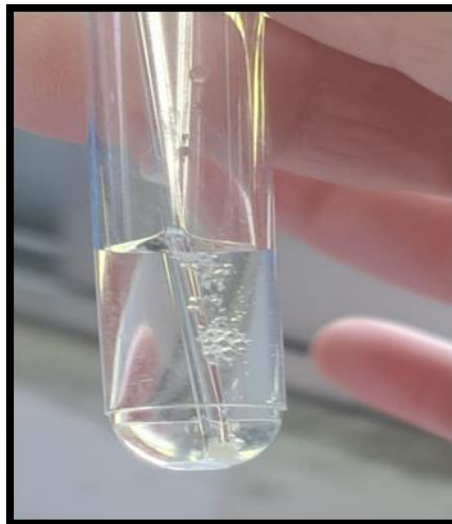
**Figure 19** : test oxydase négatif.



**Figure 20**: test oxydase positif.

- **Test catalase**

La présence des bulles gazeuses est le résultat d'une catalase positive. (figure 21).



**Figure 21** : test catalase positive.

#### 1.4. Résultats de l'identification biochimique par galerie Api 20E

##### ✓ *E.coli*

Les résultats de la galerie biochimiques suivants :Glucose, Lactose ,ONPG, Indole et la mobilité sont positifs par contre Citrates, urée et H<sub>2</sub>S sont négatifs et révèlent que cette souche présente les caractères biochimiques d' *E.coli* .

##### ✓ *Salmonella spp.*

D'après les tests de la galerie biochimique, il s'avère que cette souche correspond à *Salmonella* spp comme le montre le tableau 14.

**Tableau 14** : Résultats de la galerie API 20 E de *Salmonella* spp

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

##### ✓ *Pseudomonas aeruginosa*

D'après les tests de la galerie biochimique il s'avère que cette souche correspond à *Pseudomonas aeruginosa* comme illustré dans le tableau 15.

**Tableau15:** Résultats de la galerie API 20 E de *Pseudomonas aeruginosa* .

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

✓ *Enterobacter cloacae*

Le tableau 16 montre quelques caractéristiques biochimiques de cette souche correspondent à *Enterobacter cloacae*.

**Tableau 16 :** Résultats de la galerie API 20 E d' *Enterobacter cloacae*.

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

✓ *Aeromonas hydrophila*

Le tableau 17 résume les caractéristiques biochimiques de cette souche qui correspond à *Aeromonas aerophila*.

**Tableau 17:** Résultats de la galerie API 20 E d' *Aeromonas hydrophila*.

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

✓ *Pseudomonas fluorescens*

D'après le tableau 18 ,cette souche correspond à *Pseudomonas fluorescens*

**Tableau18** : Résultats de la galerie API 20 E de *Pseudomonas fluorescens* .

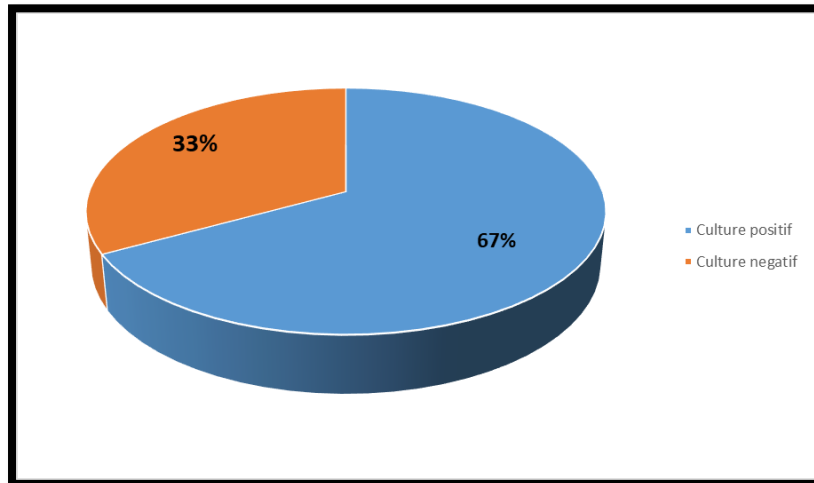
| Tests     | ONPG | ADH | LDC | ODC | CIT | H2S | URE | TDA | IND | VP  |
|-----------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Résultats | -    | +   | -   | -   | +   | -   | -   | -   | -   | +   |
| Tests     | GEL  | GLU | MAN | INO | SOR | RHA | SAC | MEL | AMY | ARA |
|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

## 2. Résultats de l'étude statistique

### 2.1. Répartition des données

#### 2.1.1. Répartition des cas suspects des coprocultures

Les résultats de la coprocultures selon la nature de culture sont montrés dans la figure 22.



**Figure22 :** Pourcentage des cultures selon la nature des cultures (n=100)

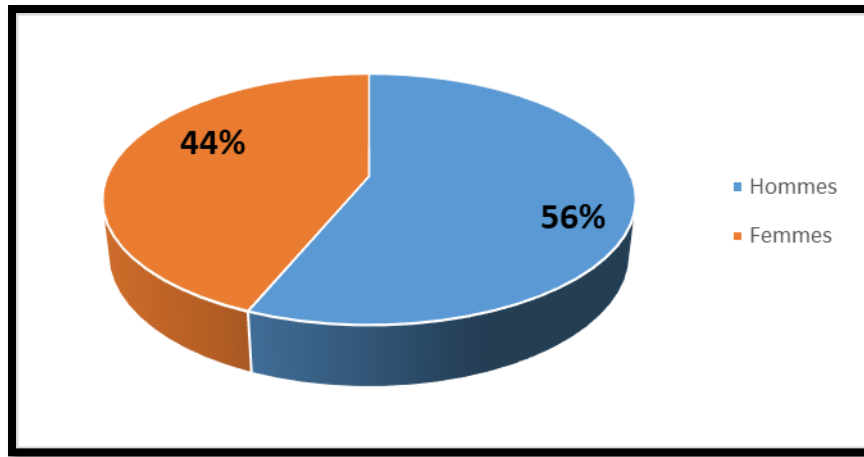
D'après nos résultats, parmi 100 échantillons (56%) cas positifs , cela indique la présence de microorganismes pathogènes ou significatifs sur le plan clinique mais un pourcentage de (36%) de cultures négatifs est encore non négligeable due soit :

- ✓ l'absence réelle d'infection.
- ✓ une collecte ou conservation inadéquate des échantillons .
- ✓ l'utilisation d'antibiotiques avant le prélèvement .
- ✓ des patients de notre population d'étude venait pour un bilan générale.

Ces résultats obtenus ne concourent pas avec les résultats rapportés par **Mouhayibou et Beye, 202)** au niveau du laboratoire d'Analyses Médicales Solabsen Sénégal, qui ne trouvent aucune cultures positives.

#### 2.1.2. Répartition des cas positifs des coprocultures selon le sexe

La figure 23 montre la répartition des coprocultures positifs selon le sexe.



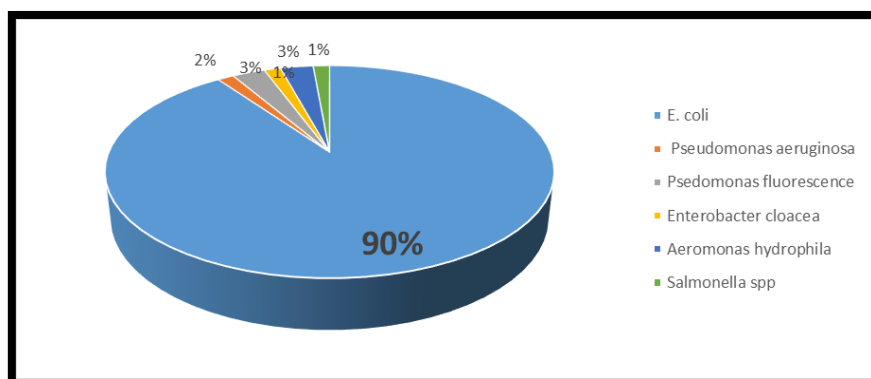
**Figure 23:** Pourcentage des cultures positifs selon le sexe (n=67).

Nous avons noté une prédominance du sexe masculin avec un pourcentage de (56%) contre celui du sexe féminin (44%), avec un sexe ratio (H/F) :1,3. Cette Prédominance masculine (56%) pourrait s'expliquer par :

- ✓ Facteurs comportementaux : Exposition professionnelle ou hygiénique différente
- ✓ Différences physiologiques : Variations du microbiote intestinal ou de la réponse immunitaire.
- ✓ Biais de recrutement : Échantillon incluant plus d'hommes dans l'étude.

Au Soudan chez les professionnels de réstoration (**Babiker et al ., 2009**) montre une prédominance masciline .

### 2.1.3. Répartition des souches isolées selon l'espèce bactérienne



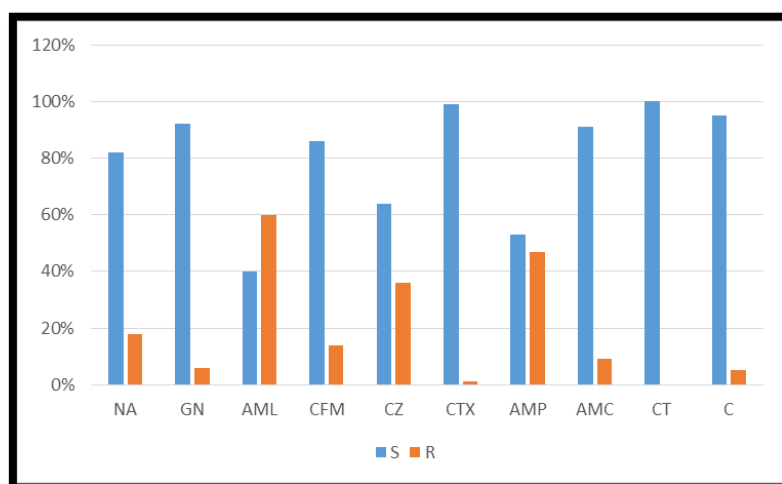
**Figure 24 :** Répartition des souches isolées selon l'espèce bactérienne (n=67)

La figure 24 montre que *Escherichia coli* occupe la première place avec 90% , en deuxième et troisième position on retrouve *Pseudomonas fluorescens* et *Aeromonas hydrophila* avec 3%, en quatrième et cinquième position on retrouve *Salmonella spp.* et *Enterobacter cloacae* avec 2%.

Une étude de (Kadour,2008 sur la prévalence des entérobactéries pathogènes du genre *Salmonella* et *Shigella* isolées lors de diarrhées chez l'homme en Kabylie montre une fréquence de *Salmonella* 12,89% , *Shigella* 11,34% , *Escherichia coli* 18,55%, *Klebsiella* 12,89% , *Pseudomonas* 12,89%, *Citrobacter* 12,37% , *Proteus* 17,01% , *Staphylococcus* 2,06%.

## 2.2. Profil de résistance et de sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques

Les 67 souches d'entérobactéries ont été testées vis-à-vis de 10 antibiotiques, durant la période d'étude.



**Figure 25** : Profil global de résistance des souches isolées (n=67).

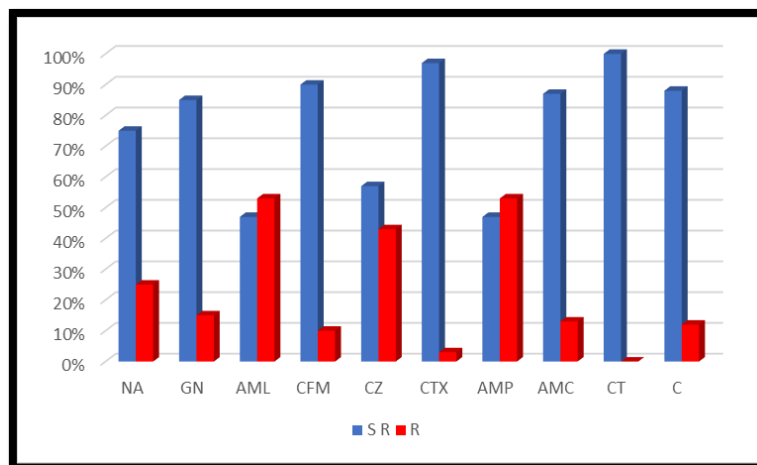
Les résultats de la figure 25 montrent que les bactéries isolées présentent une sensibilité élevée vis-à-vis des antibiotiques suivants : acide nalidixique (82%) , Gentamicine (92%) , Cefixime(86%) , Cefotaxim(99%) , colistine(100%), AMX+ Acide clavulanique(91%), chloramphénicol(95%) et une résistance moyenne pour l' Amoxicilline (40%), la Céfazoline (64%) et à l'Ampicilline (53%).

Par contre aux résultats de Mili et al., 2024 sur les liquides de ponction qui représentent une résistance élevée pour l'Amoxicilline, l'Amoxicilline + l'acide clavulanique, la Ticarcilline, la Céfazoline avec un pourcentage de 90%, 80%, 80%, 60% respectivement.



### 2.2.1. Profil de résistance et de sensibilité d'*Escherichia coli*

Au cours de l'étude prospective, un total de 60 souches d'*Escherichia coli* ont été isolées. Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans la figure 26 suivante.



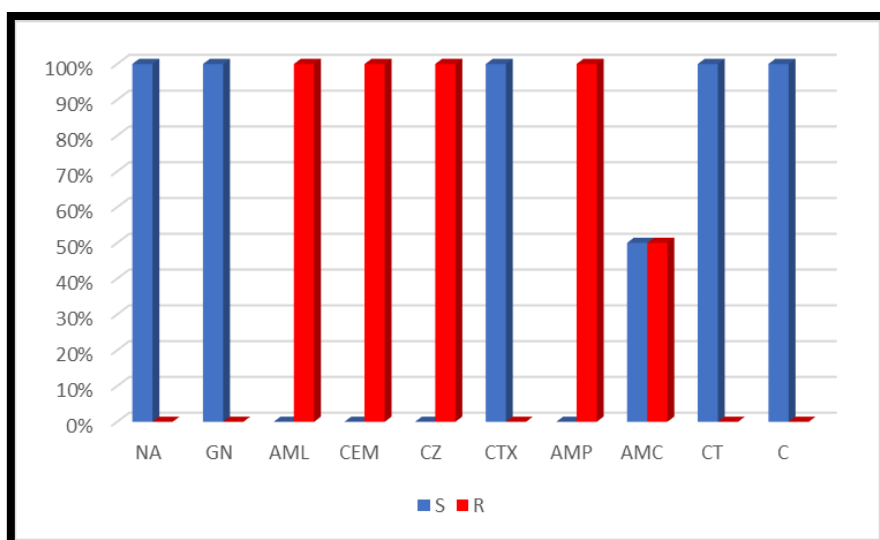
**Figure 26:** Taux de résistance des souches d'*Escherichia coli* (n=60).

Les pourcentages de sensibilité sont très élevés pour l'acide nalidixique, la Gentamicine, Cefixime, le Céfotaxime, AMX+Acideclavulanique, colistine, chloromphénicol avec des pourcentages de 75%, 85%, 90%, 97%, 87%, 100%, 88%. Les souches sont résistantes à l'ampicilline, Amoxycilin avec un pourcentage de 47%. Alors que il y'a pas de résistance pour la colistine. Par rapport à d'autre étude **Boutaiba, 2016** montre une haute résistance à l'ampicilline de 82,75%.

Une autre étude de **(Mili et al., 2024)** montre une résistance très élevée à l'Amoxicilline + l'acide clavulanique.

### 2.2.2. Profil de résistance et de sensibilité de *Pseudomonas fluorescens*

La figure 27 montre le taux de résistance des deux souches de *Pseudomonas fluorescens*.



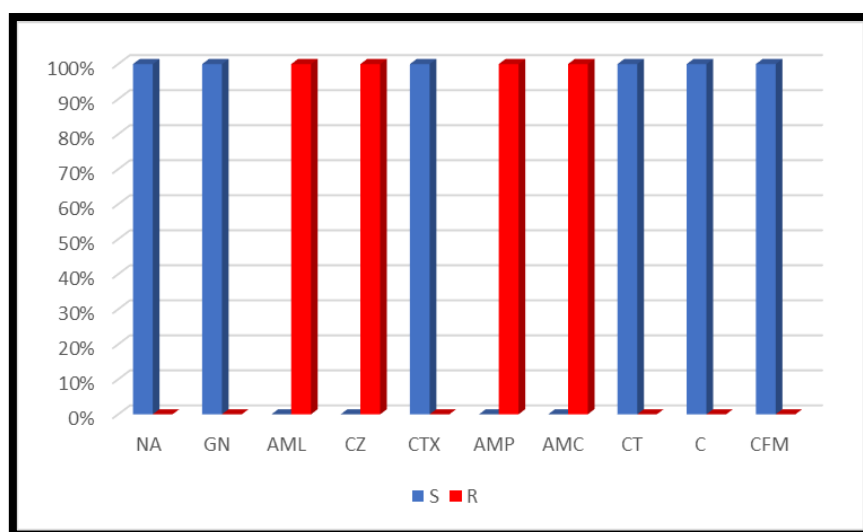
**Figure 27 :** Taux de résistance des souches de *Pseudomonas fluorescens* (n=2).

Les deux souches sont sensibles à l'acide nalidixique, Gentamicine, cefotaxime, colistine et le chloromphenicol. Aussi sont résistantes à Amoxicycline ,Cefazoline , Ampiciline , Cefixime.

Une autre étude de (**Hortense , 2015**) présente une sensibilité à la colistine(100%) et Gentamicine (98%) respectivement.

### 2.2.3. Profil de résistance et de sensibilité d' *Enterobacter cloacae*

Au cours de l'étude prospective, une seule souche d' *Enterobacter cloacae* été isolée. La figure 36 représente le profil de résistances aux antibiotiques testés.

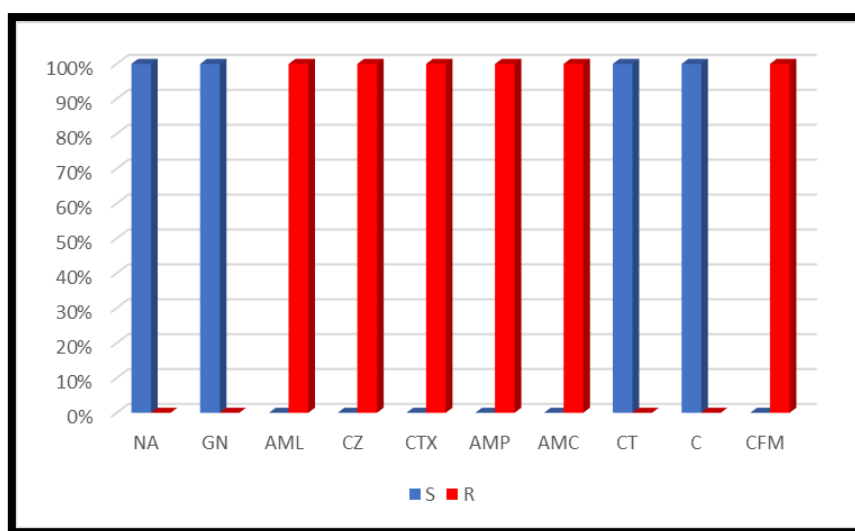


**Figure 28:** Taux de résistance des souches de *Enterobacter cloacae* (n=1).

Cette souche est résistante à l'amoxicylline , Cefazolin,Ampiciline ,AMX+Acide clavulanique.Cette étude est probablement similaire à celle de **Zalif et Zerkine, 2021** qui montre un taux de résistance de 100% vis-à-vis les antibiotiques suivants : l'Ampicilline, l'Amoxicilline, l'Amoxicilline + Acide clavulanique.

#### 2.2.4. Profil de résistance et de sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa*

La figure 29 représente le profil de résistance aux antibiotiques de la souche de *Pseudomonas aeruginosa* .

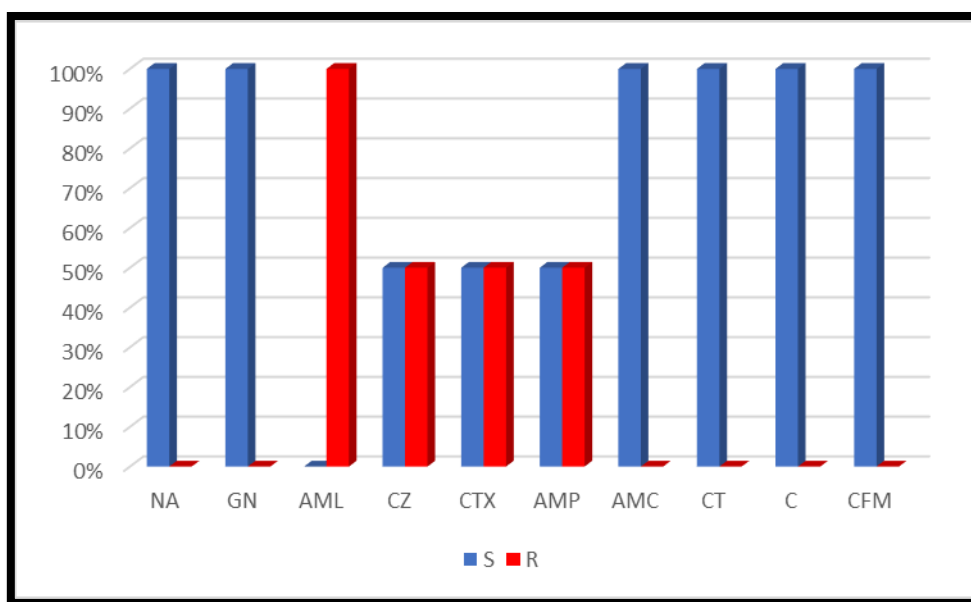


**Figure29** : Taux de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* (n=1).

Cette souche est sensible aux antibiotiques suivants: acide nalidixique , Gentamicine , colistine, chloromphénicol , mais résistante à l'amoxicyllin , cefazoline , céfotaxime , ampiciline et aussi AMX+Acide clavulanique et aussi céfexime. Une autre étude de **Boussouf et Yahya,2021** qui montre des résultats similaires de la sensibilité élevée vis-à-vis la Gentamicine et l'acide nalidixique .

#### 2.2.5. Profil de résistance et de sensibilité d'*Aeromonas hydrophila*

La figure 30 représente le profil de résistance des deux souches de *Aeromonas hydrophila* .



**Figure30** : Taux de résistance des souches d'*Aeromonas hydrophila* (n=2).

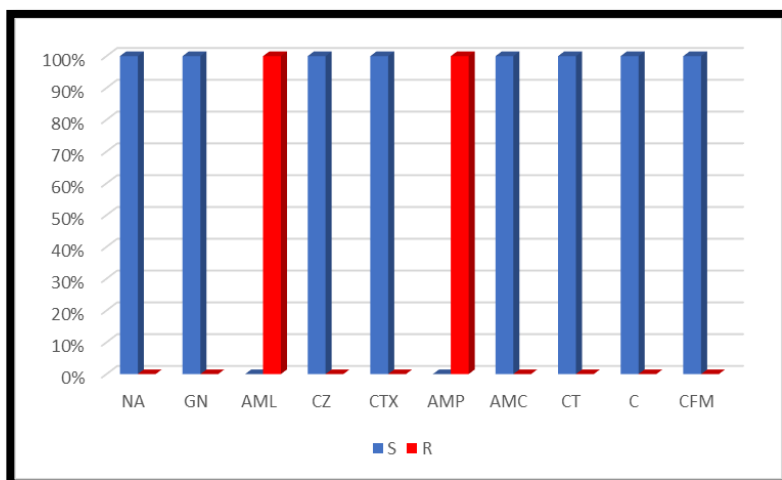
Les deux souches sont résistantes à l'amoxicilline et ampicillin est présente une grande sensibilité vis-à-vis l'acide nalidixic , Gentamicine , AMX+Acide clavulanique, ticarciline , chloromphenicol et cefixim.

Une autre étude de (Saavedra et al, 2004) montre que cette bactérie est résistante à l'ampicilline, à l'amoxicilline, et sensible à chloramphénicol , la gentamicine.

#### 2.2.6. Profil de résistance et de sensibilité de *Salmonella* spp

Cette souche est sensible à l'acide nalidixique, gentamicine , céfazoline, cefotaxime, AMX+acide clavulanique, colistine, est aussi résistante l'amoxicylline , ampicilline.

Une autre étude de (Mili et al., 2024) montre une résistance à l'Acide Nalidixique et une sensibilité totale aux autres antibiotiques testés.(figure 31).

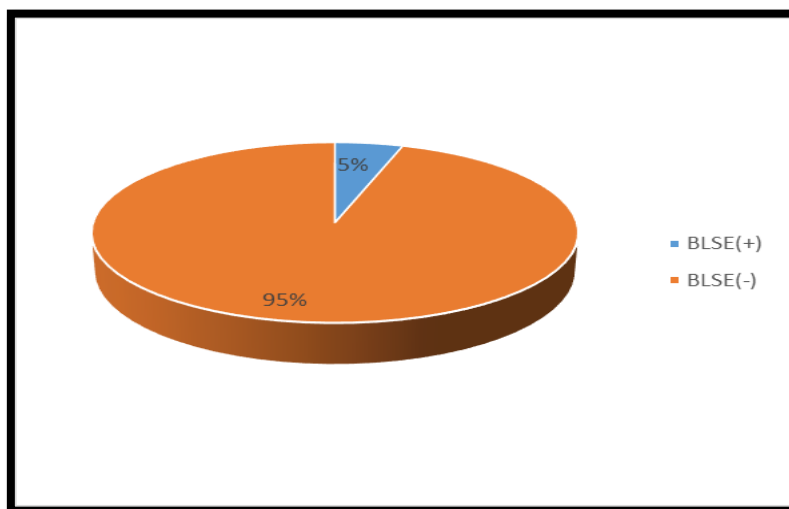


**Figure31** : Taux de résistance des souches de *Salmonella* spp (n=1).

### 2.2.7. Production des BLSE

Parmi les 61 souches étudiées, 3 souches d'*E. coli* sont productrices de BLSE.(figure 32).

Dans notre étude 5% des souches isolées sont productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE), cette valeur est inférieure à celle rapportée par **Mili et al ,2024** est de (40%) .



**Figure 32** : Production des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (n=61).

# Conclusion

Les entérobactéries, définies comme des bacilles à Gram négatif, constituent l'un des groupes bactériens les plus fréquemment isolés en diagnostic infectieux humain. Leur prédominance en pathologie découle directement de caractéristiques intrinsèques : colonisation intestinale massive, motilité, cinétique de croissance rapide, et propension à développer des mécanismes de résistance aux antimicrobiens.

Les résultats obtenus durant notre étude montrent la présence de 61 souches entérobactéries isolées des différents des coprocultures au niveau de laboratoire d'hygiène , Constantine.

Le profil bactériologique des coprocultures est dominé par *Escherichia coli* qui représente (92%) du total des isolats suivie par *Salmonella* spp.(1%),d'*Enterobacter cloacae* (1%) d'*Aeromonas hydrophila* (3%), de *Pseudomonas fluorescens* (3%), de *Pseudomonas aeruginosa* (1%).

Les résultats de l'antibiogramme des entérobactéries isolées des selles ont présenté un taux de sensibilité élevé les  $\beta$ -lactamines : l'ampicilline (47%), à l'amoxicilline +acide clavulanique (91%), à l' amoxicylline (60%), à la céfazoline (36%), au céfexime (86%), au cefotaxime (99%) et aussi une résistance aux autres antibiotiques tels que l'acide nalidixique( 82%),la Gentamicine 92%, la colistine(100% et au chloromphénicol(95%) . Aucune résistance à la colistine dont la sensibilité est de 100%.Les résultats de l'étude du profil de résistance ont permis de constater une résistance des entérobactéries isolées vis-à-vis les antibiotiques testés avec 3 souches productrices de BLSE.

Ces résultats montrent que l'usage des antibiotiques doit être pris en considération car il provoque le plus souvent des résistances chez les bactéries, ce qui implique le bon usage en thérapeutique et l'administration aux élevages des antibiotiques.

Les résultats obtenus nous permettront de penser aux perspectives suivantes :

- Il serait important d'étaler une autre étude sur une longue durée.
- De tester d'autres antibiotiques.
- De déterminer les sérotypes.
- Améliorer d'autre méthode pour la recherche de yersinia.
- Mener une étude sur la détection des gènes de résistances aux antibiotiques.

# **Références Bibliographiques**



### Références bibliographique

-A-

**Adjakar.** , Entérobactéries  $\beta$ -lactamases à spectre étendu EBLSE : mécanismes de résistance aux antibiotiques et méthodes de détection au laboratoire, Mémoire d'obtention du diplôme de master en sciences biologique. 2015.

**Avril JI., Dabernat H., Denis F., Monteil H.** (2000). Bactériologie Clinique, Ed Ellipses, paris, 2ème édition : 171-177.

**Avril JI., Dabernat H., Denis F., Monteil H.** (1992). Bactériologie clinique. Ed Ellipses, paris, 2ème édition, Paris, 511p.

**Antibioresistance** (En ligne)consulté le 20/03/2025([https://www.encyclopédie-environnement.org/app/uploads/2018/05/antibioresistance\\_fig1-mecanismes-resistances-antibiotiques-400x273.jpg](https://www.encyclopédie-environnement.org/app/uploads/2018/05/antibioresistance_fig1-mecanismes-resistances-antibiotiques-400x273.jpg)).

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

-B-

**Ben moussa A.** Profile de sensibilité des entérobactéries aux fluoroquinolones au CHU de Rabat. Université Mohammed V- Rabat[thèse]; 2016.

**Bonne, D. R. et Garrity, G.** (2001). Bergey's manual of systematic bacteriology; the Archaea and the deeply branching and phototropic bacteria. 2nd edition.

**Brenner, D.J., Garrity, G., Staley, J.R., Staley, J.T et Krieg, N.R.** (2007). Bergey's manual of systematic bacteriology : the proteobacteria, Vol (02). Springer US. 587p.

**Baron, E. J., Miller, J. M., Weinstein, M. P., Richter, S. S., Gilligan, P. H., Thomson, R. B., ... & Carroll, K. C.** (2013). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clinical Infectious Diseases, 57(4), e22-e121.

**Brahmia R. et al.** (2016). La résistance des bactéries aux antibiotiques dans l'hôpital d'Oued Zenati. Mémoire de master en microbiologie de l'environnement. P : 19 ; 22 ; 23.

**Boucefiane L. et Slimi C.** (2019). Etude de profil épidémiologique des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées dans la région d'Ain Defla. Mémoire de master en microbiologie appliquée. P : 24.

**Babiker MA, Ali MSM, Ahmed ES.** Frequency of intestinal parasites among food-handlers in Khartoum, Sudan. East Mediterr Health J Rev Sante Mediterr Orient Al-Majallah Al-Sihhiyah Li-Sharq Al-Mutawassit 2009,15, (5):1098-104.

**Boussouf O, Yahia A Cherif N,(2020).** Epidémiologie et profils de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine. Mémoire de master : Biologie Moléculaire des microorganismes, Université des Frères Mentouri Constantine, 84p.

**Boutaiba M , (2017).** Antibior sistance des ent robact rics d'origine aviaire au niveau de l'ouest Algrien . mémoire de magister : Hygi ne et Qualit des Aliments d'Origine Animale , UNIVERSITÉ IBN KHALDOUN DE TIARET, 133p.

### -C-

**Canadian Journal of Microbiology February 1992** (En ligne) consulté le 12/03/2025  
<https://doi.org/10.1139/m92-015>

**Caractères culturels *Salmonella* spp.** (En ligne) Consulté le 20/2/2025  
([https://aemip.fr/?page\\_id=3658](https://aemip.fr/?page_id=3658))

**Cibles des antibiotiques** (En ligne) consulté le 15/03/2025(<https://devsante.org/articles/antibiotiques-modes-d-action-mecanismes-de-la-resistance/antibiotique-fig-1.jpg>).

**Chekroud R. et Fathi R.** (2017). Etude du profil bactériologique et de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries responsables des infections urinaires. Mémoire master en hygiène hospitalière. P : 1 ; 5 ; 17 ; 19.

### -D-

**DCEM1 N.** Bactériologie. Université Pierre et Marie Curie. 2003;; 72 p.

**Delarras C.** (2014). Pratique en Microbiologie de Laboratoire. Recherche de Bactéries et de levures-moisissures. Edition Lavoisier, Paris, p 257- 235.

**Delarras C.** (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire paris: Techniques et Documentation Lavoisier, 128-129 p.

**Denis F, Cécile M, Christian M, Cattoir V.** Bactériologie Médicale, techniques usuelles.Elsevier masson 3<sup>ème</sup> édition ; 2016.

**Denis F, Ploy MC.** (2007). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Masson. p 316-318.

### -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.

### -F-

**Flandrois JP.** (1997). Bactériologie Médicale. Presses universitaires de Lyon, 309p.

**Forster, S. C.** (2019). A human gut bacterial genome and culture collection for improved metagenomic analyses. *Nature Biotechnology*, 37(2), 186-192.

**Fauchere J L.** (1997). Techniques en bactériologie clinique. Bacteriofiches : Editions Ellipses. Paris ; 39, 43p.

### -G-

**Guiraud P J.** (2012). Microbiologie alimentaire. Les presses ISBN ; 22 : 80- 171.

**Gogny M.** (2001). Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire. Edition le point vétérinaire. 165-168.

**Gourvalin, P., & Leclercq, R.** (2011). Antibiotic interactions: From mechanisms to clinical practice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, \*66\*(3), 123-135.

**Guerin-Fauble V.** (2010). Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. In : Journées nationales GTV. Lille, 26-28 mai 2010, SNGTV, Paris.

**Gadou V.** (2017). Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de,  $\beta$ -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district D'Abidjan, Côte D'ivoire. Thèse de doctorat en biologie fonctionnelle et moléculaire. Université Félix Houphouet Boigny. P : 31.

**Gangoue Pieboji J.** (2007). Caractérisation des bêta-lactamases et inhibition par les plantes médicinales. Thèse de doctorat en biochimie. Université de Liège. P : 15.

**Guessennd N, Bremont S, Gbonon V.** (2008). Résistance aux quinolones de type qnr Chez les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d'Ivoire. *Pathologie Biologie* ; 56 : 439-446.

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

**Gharout-Sait A.** (2016). Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries Hospitalières et Communautaires. Thèse de doctorat. Bejaia, Algérie. Université A.MIRA. 195P.

### -H-

**Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., ... & World Health Organization Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group.**

(2015). World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. PLoS Medicine, 12(12), e1001923.

**Humphries, R., Bobenchik, A. M., Hindler, J. A., & Schuetz, A. N.** (2021). "Overview of Changes to the Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, 31st Edition.

Hortense G, K, Michel T, Zacharie S, Jean Marie Ndifo Ngamba, Calixte DM, and D A, (2015). Caractérisation phénotypique des souches de Pseudomonas aeruginosa isolées dans la ville de Yaoundé (Cameroun) (article en ligne) ; vol04 .

-I-

**Inféction par Shigella**, consulté le 02/03/2025 ([https://images-provider.frontiersin.org/api/ipx/w=480&f=webp/https://www.frontiersin.org/files/Articles/249163/fcimb-07-00064-HTML/image\\_m/fcimb-07-00064-g001.jpg](https://images-provider.frontiersin.org/api/ipx/w=480&f=webp/https://www.frontiersin.org/files/Articles/249163/fcimb-07-00064-HTML/image_m/fcimb-07-00064-g001.jpg))

-J-

**J Freney** . Bactériologie des Entérobactéries isolées au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine.

**Joly, B. et Reynaud, A.** 2002. Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris. 356P.

-K-

**KADDOUR A, (2008).** PREVALENCE DES ENTEROBACTERIES PATHOGENES DU GENRE SALMONELLA et SHIGELLA ISOLEES LORS DE DIARRHEES CHEZ L'HOMME EN KABYLIE. Mémoire de magister : Hygiène et Sécurité Alimentaire, EL HARRACH , ALGER : ECOLE NATIONALE VETERINAIRE, 158p.

-L-

**Le Minor I, Veron N.** (1989). Bactériologie Médicale Med. Science, Edition Flammarion Paris, 333- 318 ; 773-823.

**Livermor DM.** (1995).  $\beta$  -Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev ; 8(4): 557-584.

**la morphologie des Enterobacteries** (en ligne) consulté le 17/02/2025 ([www.gettyimage.com](http://www.gettyimage.com)).

**Lozniewski A, Rabaud C.** (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques .Infections associées aux soins .Nancy : CCLIN Sud-Est ; 4 :1.

**Lagha N.** (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de

$\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat en science. P : 7 ; 18.

**Li, X.-Z., & Nikaido, H.** (2004). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 64(2), 159-204.

-M-

**Moussa N, Moussaoui F.** (2016). Recherche des Entérobactéries productrices de Beta-lactamases à spectre élargi dans les viandes de volaille. Mémoire de Master : Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement .Tébessa, Algérie : Université de Tébessa, 57p.

**Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A.** (2021). ,microbiologie médicale , 9th ed.

**Mili H, Benmalek K, Medhzili K,**(2024). 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 de Master : biologie moléculaire des microorganismes, Université Constantine 1 Frères Mentouri , 85p.

-N-

**Ndiaye A.** (2005). Les Entérobactéries sécrétrices de bêta –lactamases à spectre élargi. Thèse de Doctorat en Pharmacie : Dakar, Sénégal. Université Cheikh Anta Aiop, 65p.

**Nordmann P, Mammeri H.** (2007). Résistance plasmidique aux quinolones. *Antibiotiques* ; 9: 246-53.

**Mouhayibou BEYE A.**(2023). Identification et Prévalence des Entérobactéries des Patients Consultés au Laboratoire d'Analyses Médicales Solabsen . Mémoire de licence : Analyse biologique. Dakar , sénégal : ACADEMIE INTERNATIONALE DES HAUTES ETUDES DE LA SECURITE , 61p.

-O-

**Ogawara H.** (1981). Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics. *Microbial. Rev* ; 45(4) : 591-619.

-P-

**Patrick, B .Jean-Louis. G , Michel. S;** Bactériologie :les bactéries des infections humaines.

**Paolozzi L, Liebart JC.** (2015). Microbiologie : Biologie des procaryotes et de leurs virus. Paris : Les presses d'Épargne par Unigraf S.L ; 449, 452- 453.

**Perriere, G.** (1992). Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation certains aspects de l'expression des gènes chez E. coli UCBL. Lyon : Université de Lyon I.14-77 p.

**Pilly E.** (2013). *Maladies Infectieuses Tropicales*, 24ème édition, Paris : Groupe Burlat ; P227.

**Passoret, V.** (2018). Pathogénicité potentielle et résistance antimicrobienne des *Escherichia coli* isolés des poulets au Sénégal, au Canada (Québec) et au Vietnam. Thèse de doctorat : médecine vétérinaire. Montréal : Université de Montréal département de pathologie et microbiologie faculté de médecine vétérinaire, 322P.

**Paolozzi L, Liebart JC.** (2015). *Microbiologie : Biologie des procaryotes et de leurs virus*. Paris : Les presses d'Épargne par Unigraf S.L ; 449, 452- 453.

**Pina P.** (2000). Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques en Unités de soins intensifs. *J Path Biol* ; 48: 485-489.

**Ploy MC, Gassama A, Chainier D, Denis F.** (2005). Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. Intégrons : an antibiotic resistance gene capture system. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* ; 20: 343-352.

-R-

**Ray, C.G et Rayn, K.J.** (2003). *Sherris medical microbiology: an introduction to infectious*. 4th edition. Mc Graw-hill medical. 343 p.

**Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C.** (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14.

**Riddle MS.** (2016). Lignes directrices cliniques de l'ACG : Diagnostic, traitement et prévention des infections diarrhéiques aiguës chez les adultes. *American Journal of Gastroenterology*

-S-

**Sastry, A.S et Bhat, S.** (2019). *Essential of medical microbiology*. 2 ème édition. Jaypee Brother's medical. 310 p.

**Structure des bactéries à Gram négatif** (en ligne) consulté le 17/02/2025 ([www.alamy.com](http://www.alamy.com)).

**Skurnik D, Andremont A.** (2006). Antibiothérapie sélectionnante: de la théorie à la pratique. *Réanimation* ; 15: 198–204.

**Saavedra, M. J., Guedes-Novais, S., Alves, A., Rema, P., Tacao, M., Correia, A., & Martinez-Murcia, A.** (2004). Resistance to beta-lactam antibiotics in *Aeromonas hydrophila* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Microbiology : The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 7(3), 207-211.

-T-

## Références bibliographiques

---

**Talbert, R., Watkins, R., & Taylor, D.** (2015). Antibiotics: Mechanisms of action and resistance.

**Tortora, G., Case, C. et Funke, F.** (2003). Introduction à la microbiologie. France : PEARSON. 142 p.

-Z-

**ZALIF B, 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 : Biologie moléculaire des microorganismes, Université des Frères Mentouri Constantine ,67p.

# **Annexes**



### Annexe01

#### ✓ Coloration de Gram

- 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 et 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 02

#### ✓ Milieux de cultures, tests et réactifs

##### ▪ Milieux de cultures

##### Milieu Hektoen

|                            |       |
|----------------------------|-------|
| Peptones.....              | 15.3g |
| Sels biliaries.....        | 9.0g  |
| Lactose.....               | 12.0g |
| Saccharose.....            | 12.0g |
| Salicine.....              | 2.0g  |
| Chlorure de sodium.....    | 5.0g  |
| Thiosulfate de sodium..... | 5.0g  |
| Fushine acide.....         | 0.1g  |
| Bleu de Bromothymol...     | 65mg  |

##### Gélose Mueller-Hinton

|                                  |          |
|----------------------------------|----------|
| Infusion de viande de boeuf .... | 300 g/l  |
| Hydrolysate de caséine.....      | 17,5 g/l |
| Amidon.....                      | 1,5 g/l  |
| Agar.....                        | 17 g/l   |

Agar.....15.0g

#### **Urée indole**

L-Tryptophane..... 3,0 g

Phosphate d'acide de potassium..... 1,0 g

Phosphate de mono acide de potassium .1,0 g

Chlorure de sodium..... 5,0 g

Urée..... 20,0 g

Alcool à 95°..... 10 ml

Rouge de phénol en solution à 1%..... 2,5 ml

#### **Milieu TSI**

Extrais de bœuf..... 03 g

Extrait de levure..... 03 g

Peptone..... 20 g

Chlorure de sodium..... 05 g

Lactose..... 10 g

Saccharose..... 10g

Glucose..... 07g

Citrate de ferrique..... 03 g

Thiosulfate de sodium..... 03g

Rouge de phénol..... 0,025g

#### **Milieu Mannitol-mobilité**

Peptone trypsique de viande..... 20,0 g

Agar.....4,0 g

Mannitol..... 2,0 g

Nitrate de potassium..... 1,0 g

Rouge de phénol à 01%..... 04 ml

#### **Milieu de citrate de simmons**

Sulfate de magnésium..... 0,2

Phosphate mono ammoniacque..... 1,0 g

Phosphatebipotassique..... 1,0 g

Citrate de sodium..... 2,0 g

Chlorure de sodium..... 0,6g

Bleu de bromothymol..... 15,0 g

#### **Mac Conkey**

Peptone..... 17g

Lactose..... 10g

Sels biliaries..... 1,5g

Rouge neutre..... 0,03g

Chlorure de sodium..... 5g

Agar..... 13,5g

#### **Sélénite simplement concentré**

Tryptone..... 5 g

Lactose..... 4 g

Disodium hydrogénophosphate..... 10g

Hydrogénosélénite de sodium..... 4g

L-cystine.....0.01g

**Sélénite doublement concentré**

Tryptone..... 10 g  
 Lactose..... 8 g  
 Disodium hydrogénophosphate..... 20g  
 Hydrogénosélénite de sodium..... 8 g  
 L-cystine..... 0.02g

**Hydroxyde de potassium (KOH) 5%**

Hydroxyde de potassium (KOH)..... 5 g/100 mL  
 Eau distillée..... QS 100 ML

**Eau peptonée tamponnée**

Peptone de caséine..... 10g/l  
 Chlorure de sodium..... 5g/l  
 Phosphate de sodium , dibasique..... 9g/l  
 Phosphate de potassium , dibasique..... 1,5g/l

**Catalase**

Peroxyde d'hydrogène ..... 3%

**Oxydase**

Réactif de l'oxydase(N,N-diméthyl-phénylalanine..... Disque imprégné à 1 %

**ONPG**

Ortho-NitroPhenyl-β-D.....0,5 à 1 mg/ml

Galactopyranoside

**Annex03: fiche d'identification de la galerie API 20E**

|   |                |         |   |            |
|---|----------------|---------|---|------------|
| API® 20E  |                | CE      | REF. : _____  | BIOMÉRIEUX |
|   |                | 07223 C | Origine / Source / Herkunft /<br>Origen / Origen / Προέλευση /<br>Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie : |            |
| 1 2 4   | 1 2 4          | 1 2 4   | 1 2 4   | 1 2 4      |
| ONPG  | ADH            | LDC     | ODC   | LIT        |
|   |                |         |   |            |
| 1 2 4   | 1 2 4          | 1 2 4   | 1 2 4   | 1 2 4      |
| URE   | TDA            | IND     | LVP   | IGEL       |
|   |                |         |   |            |
| 1 2 4   | 1 2 4          | 1 2 4   | 1 2 4   | 1 2 4      |
| GLU   | MAN            | INO     | SOR   | RHA        |
|   |                |         |   |            |
| 1 2 4   | 1 2 4          | 1 2 4   | 1 2 4   | 1 2 4      |
| SAC   | MEL            | AMY     | ARA   | OK         |
|   |                |         |   |            |
| 1 2 4   | 1 2 4          | 1 2 4   | 1 2 4   | 1 2 4      |
| NO <sub>2</sub>   | N <sub>2</sub> | MOB     | McC   | OF-O       |
|   |                |         |   |            |
| 1 2 4   | 1 2 4          | 1 2 4   | 1 2 4   | 1 2 4      |
| OF-F  |                |         |   |            |
|   |                |         |   |            |
| Autres tests / Other tests / Andere Tests /<br>Otras pruebas / Altri test / Outros testes /<br>Άλλες εξετάσεις / Andra tester /<br>Andre tests / Inne testy : |                |         | Ident. / Ταυτοποίηση :  |            |

**Annex04 : fiche de renseignement**

DE WILAYA D. S. P. S

№ 006358

Examen demandé par \_\_\_\_\_

Nom du Malade : .....

RECHERCHES DEMANDÉES :

|   |  |
|---|--|
| <p align="center"><b>Année universitaire : 2024-2025</b></p>  | <p align="center"><b>Présenté par : Djebli Romaisa Nibel</b></p> <p align="center"><b>Delimi Ouail</b></p> <p align="center"><b>Kirouani Ilhem</b></p> |
| <p align="center"><b>Caractérisation de quelques entérobactéries pathogènes isolées des coprocultures au niveau du laboratoire d'hygiène (Daksi , Constantine). Etude du profil de résistance aux antibiotiques.</b></p>  |  |
| <p align="center"><b>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie moléculaire des microorganismes</b></p>  |  |
| <p><b>Résumé</b></p> <p>La propagation mondiale des souches d'entérobactéries multi-résistantes connaît une évolution inquiétante, limitant fortement les options thérapeutiques disponibles. Ce travail vise à déterminer le profil de résistance de certaines entérobactéries isolées des selles ou laboratoire d'hygiène,Constantine. Au total,67 souches d'entérobactéries ont été isolées 60 souches d'<i>E. coli</i>, 1 souche d'<i>Enterobacter cloacae</i> ,1 souche de <i>Salmonella</i> spp ,2 souches d' <i>Aeromonas hydrophila</i>, 2 souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> et 1souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Ces souches présentent des profils de sensibilité élevées pour l'acide nalidixique (82%), la Gentamicine (92%), la céfixime(86%), l'amoxicilline+ acide clavulanique (91%)et le chloromphénicol (95%) et une résistance moyenne pour l'amoxycilline (40%), la céfazoline (64%) et à l'ampiciline (53%). Tandis que la colistine reste sensible à 100% sur toutes les souches.</p> |  |
| <p><b>Mots-clés :</b> Antibiotiques, Antibiorésistance, entérobactéries, la coproculture .</p>  |  |
| <p><b>Laboratoires de recherche :</b> laboratoire d'hygiène , Constantine.</p>  |  |
| <p><b>Président du jury :</b> RIAH Nassira (MCA) Université Constantine 1 Frères Mentouri</p> <p><b>Encadrante :</b> BOUZERAIB Latifa (MAA) Université Constantine 1 Frères Mentouri</p> <p><b>Examinatrice :</b> MEZIANI Meriem (MCA) Université Constantine 1 Frères Mentouri</p>   |  |