



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 مtentouri كلية
علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Appliquée

قسم : بиология تطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Étude épidémiologique de bactéries multi-résistantes
(BMR) : cas des EBLSE et SARM au niveau de l'EHS
Sidi Mabrouk – Hôpital Pédiatrique El Mansourah**

Présenté par : BAYOU Aya

Le : 23/06/2025

BOUABDALLAH Aya

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr BATAICHE Insaf (MC B- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : Dr ADOUI Mounira (MC A- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinateuse: Dr HARZALLAH Besma (MC B- U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2024 - 2025**

REMERCIEMENTS

Nous tenons d'abord à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la Patience d'accomplir ce modeste travail.

*En second lieu, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Mme **ADOUI MOUNIRA** maître de conférences B à l'Université Frères Mentouri de Constantine 1, qui est pour nous un encadreur attentif et disponible. Sa compétence distinctive, sa rigueur scientifique nous ont beaucoup aidés. Nous la remercions, pour son assistance matérielle et morale, pour son aide et son soutien.*

*Nos remerciements s'adressent à Mme **BATAICHE I** Maitre de conférences A à l'Université Frères Mentouri Constantine1 ; pour avoir accepté de juger ce travail et pour l'insigne honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Un très grand merci à Mme **HARZALLAH B** Maitre de conférences A à l'Université Frères Mentouri Constantine1 ; pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce modeste travail.*

*Nos remercîments vont aussi à Mr **KACEM CHAOUCHE NOREDDINE**, chef de département de Biologie Appliquée pour nous avoir acceptées dans son département.*

Nous remercions également tout le personnel de l'hôpital pédiatrique d'El Mansourah Constantine .Particulier Dr.BENTCHIKOU RIFKA qui a beaucoup contribué à ce travail.

Nous exprimons tous nos remerciements à l'ensemble des professeurs de notre spécialité (Microbiologie et Hygiène Hospitalière).

Merci d'avoir pris le temps de nous aider au cours de ces Années et de nous avoir accompagné dans la maîtrise de nos connaissances.

AYA+AYA

Dédicace

Au nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

*À moi-même, Parce que je n'ai jamais cédé face à la défaite,
Parce que j'ai lutté avec courage et persévérance jusqu'au dernier instant, malgré les doutes
et les épreuves, j'ai tenu bon, Aujourd'hui, avec fierté, je me le permets enfin :
Oui, je l'ai accomplie.*

*À ma chère maman **louiza**, la lumière de ma vie, ma meilleure amie, la plus merveilleuse des personnes, Même si tu n'es plus de ce monde, je te dédie cette réussite, ainsi que toutes celles à venir. Merci pour ton amour éternel, et surtout, merci d'avoir été ma mère. Je t'aime profondément.*

*À ma chère tante **Samira** Merci pour ton soutien constant, ta générosité, ta tendresse et ton amour, Merci pour tout.*

*À ma petite et jolie sœur **Khadija**, Je suis reconnaissante de t'avoir dans ma vie.*

Merci de m'avoir donné la chance d'être la grande sœur de la plus merveilleuse sœur au monde, je te souhaite plein de réussite.

*À mes chers frères **Aymen** et **Houssam**, Merci pour votre soutien et vos encouragements constants, Merci d'être mes piliers inébranlables.*

*À mes deux amies préférées, **Melek** et **Meriem**, Je remercie d'abord le destin de vous avoir mises sur mon chemin, et je vous remercie ensuite pour votre amour et votre soutien constants. Merci de m'avoir appris la véritable signification de l'amitié et de la fraternité.*

Puissiez-vous rester pour moi une belle chose qui ne finit jamais

*À ma deuxième famille : tonton **Nabil**, tante **Zahia**, et mes sœurs **Roukia**, **Hajer**, **EL Batoul**, Merci pour votre soutien constant, pour vos encouragements dans ma vie en général et dans mes études en particulier, Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

Je vous suis profondément reconnaissante.

*À ma Binôme **AYA** Merci d'avoir été le meilleur soutien tout au long de ce parcours,
J'espère que nos efforts ne seront pas vains.*

J'espère que ces mots vous parviendront avec chaleur et amour, comme une expression sincère de mes sentiments et de ma profonde gratitude envers vous tous.

AYA BAYOU.

Dédicace

Ce travail est l'aboutissement d'un chemin semé d'embûches, d'efforts et de patience.

Rien n'a été simple, mais chaque étape a forgé celle que je suis aujourd'hui.

Je rends grâce à Dieu pour Sa force, Sa lumière et Sa présence constante.

Je dédie ce mémoire

*À celui dont l'absence m'a brisé le cœur mais dont la sagesse continue de me guider :
mon père **Mokhtar**. Tu as quitté ce monde, mais tu vis en moi à travers chaque mot que tu
m'as dit Ta phrase : « Ne regarde pas en arrière, avance. » est devenue ma boussole.*

Je marche vers l'avenir avec toi dans ma mémoire.

*À ma mère **Salima**, femme exceptionnelle et courageuse, toi qui as été mon pilier, mon
refuge, mon exemple. Tu as porté seule un fardeau immense, et jamais tu ne t'es plainte.*

Je te dois tout. Merci d'avoir été les deux parents à la fois.

*À mon frère **Seif El Islam**, à mes sœurs **Basmala, Baraa, Djenna**, votre présence est un
réconfort au quotidien. Je vous aime profondément.*

*À **Ayouch**, ma complice de galère,
chaque défi surmonté à tes côtés a renforcé ma détermination. Merci pour ton soutien, ta
bonne humeur et ta présence.*

*À toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à faire de ce projet une réalité,
en particulier **Bahri Imane** et **Menghour Nour Elimane**... Merci du fond du cœur..*

*Et enfin, à moi-même,
pour avoir tenu bon, pour n'avoir jamais abandonné, pour avoir cru en mes rêves, même
dans les moments de doute.*

AYA BOUABDALLAH

SOMMAIRE

Listes des abréviations

Listes des photographies

Listes des figures

Listes des tableaux

Introduction	1
Chapitre I : Généralités	3
1. Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i>.....	3
1.1 Taxonomie	3
1.2 Habitat	3
1.3 Caractères bactériologiques.....	4
1.3.1 Caractères morphologiques.....	4
1.3.2 Caractères culturaux.....	4
1.3.3 Caractères biochimiques.....	4
1.4 Pouvoir pathogène	4
1.5 Facteurs de virulence et physiopathologie de <i>Staphylococcus aureus</i>.....	5
1.5.1 Protéines de surface : Colonisation.....	5
1.5.2 Facteurs protégeant la bactérie de la phagocytose	6
1.5.3 Facteurs conduisant à l'extension de l'infection	6
2. Généralités sur les Entérobactéries	7
2.1 Classification	7
2.2 Habitat	7
2.3 Caractères bactériologiques.....	8
2.3.1 Caractères morphologiques.....	8
2.3.2 Caractères culturaux.....	8
2.3.3 Caractères antigéniques.....	8
2.3.4 Caractères biochimiques.....	9

2.4 Pouvoir pathogène	9
3. Généralités sur la propolis	11
3.1 Définition	11
3.2 Composition de la propolis	11
3.3 Activités biologiques	11
Chapitre II : Résistance aux antibiotiques.....	13
1. Définition	13
2. Types de résistance	13
2.1. Résistance naturelle.....	13
2.2. Résistance acquise	13
3. Mécanismes de résistance.....	13
4. Résistance aux β -lactamines.....	14
4.1. Résistance de <i>S. aureus</i> aux β -lactamines.....	14
4.1.1 Résistance par production de β -lactamases (pénicillinases)	15
4.1.2 Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle : la PLP2a	15
4.1.3 Résistance à la méthicilline	15
4.2 Résistance des entérobactéries aux β -lactamines.....	16
4.2.1 Résistance enzymatique des entérobactéries aux β -lactamines.....	16
5. Résistance aux aminosides.....	17
5.1 Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux aminosides	18
5.2 Résistance des entérobactéries aux aminosides	18
6. Résistance aux Macrolides	18
6.1 Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux Macrolides	19
6.2 Résistance des entérobactéries aux Macrolides	19
7. Résistance aux fluoroquinolones.....	19
7.1 Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux fluoroquinolones	19

7.2 Résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones.....	19
8. Résistance aux Glycopeptides	20
8.1 Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux Glycopeptides	20
8.2 Résistance des entérobactéries aux Glycopeptides	20
Chapitre III : Matériel et Méthodes	21
1. Objectif	21
2. Matériel.....	21
2.1 Souches	21
2.2 EEP	22
3. Méthodes.....	22
3.1 Isolement et identification des souches	22
3.1.1 Examen macroscopique	22
3.1.2 Examen microscopique	23
3.1.3 Identification biochimique.....	23
3.2 Antibiogramme	28
3.2.1 Etude de la sensibilité aux antibiotiques (profil de résistance).....	28
➤ Préparation de l'inoculum	28
➤ Inoculation des géloses.....	29
➤ Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique	29
➤ Incubation des géloses.....	29
➤ Lecture	29
3.2.2 Détection des souches multirésistantes	31
➤ SARM	31
➤ Détection des BLSE.....	32
Chapitre IV : Résultats et discussion.....	33
1. Etude rétrospective (épidémiologique).....	33
1.1 Prévalence des SARM et BLSE.....	33

1.2	Evolution en pourcentage de la fréquence des SARM (2022-2025)	34
1.3	Evolution en pourcentage de la fréquence des EBLSE (2022-2025)	35
1.4	Evaluation des EBLSE par spécialité clinique.....	36
1.5	Évaluation des bactéries multi résistantes SARM par secteur de soins	37
1.6	Répartition des EBLSE et SARM selon le site infectieux	38
1.7	Répartition des EBLSE isolées selon la nature des espèces bactériennes.....	40
1.8	Distribution des souches EBLSE dans les ECBU	40
2.	Etude prospective.....	42
2.1	Identification des souches étudiées.....	42
2.1.1	Examen microscopique	42
2.1.2	Examen macroscopique	43
2.1.3	Identification biochimique.....	44
2.2	Détection des SARM et EBLSE.....	45
2.2.1	Détection des SARM	45
2.2.2	Détection BLSE	45
2.3	Etude de la résistance (profil de résistance)	47
2.3.1	Entérobactéries BLSE.....	47
2.3.2	SARM	49
2.4	Etude de l'activité antibactérienne de la propolis	51
	Conclusion et perspectives	53

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Abstract

ملخص

LISTES DES ABREVIATIONS

Listes des abréviations

AAC : Les antibiotiques par acétyltransférase.

AC NAL : Acide nalidixique.

ADH : arginine dihydrolase.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique.

ANT : Les antibiotiques par adényltransférase.

APH : Les antibiotiques par phosphotransferase.

ArmA : Méthyltransférase A de résistance aux aminosides.

ARN : Acide Ribonucléique.

ATM : Aztréoname.

AUG : Amoxicilline + Acide clavulanique.

AX : Amoxicilline.

BG : Bactériologie Générale.

Bla Z : β -lactamase de type Z.

BLSE : β -lactamases à spectre étendu.

BMR : Bactéries Multirésistantes.

C3G : céphalosporines de 3^{ème} génération.

C4G : céphalosporines de 4^{ème} génération.

CAZ : Céftazidime.

CEF : Cefepime.

CHLO : Chloramphenicol.

Cit : Citrate.

ClfA : Clumping factor A.

ClfB : Clumping factor B.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

COLIS : Colistine.

CTX : céfotaxime.

CTX : Service maladies contagieuses.

CTX-M : Céfotaximases M.

CZ : Céfazoline.

D-Ala-D-Ala : D-alanine-D-alanine.

Déchoc : Déchocage.

E. coli : *Escherichia coli*.

EBLSE : Entérobactéries Productrices de β -lactamases à Spectre Etendu.

ECB : Examen Cytobactériologique.

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines.

EEP : Extrait Ethanolique de la Propolis.

Erm: Érythromycine ribosomal méthylase.

ERYTHROM: Erythromicine

FOX : Céfoxitine.

GE : Grand Enfant

GEN : Gentamycine.

Glu : Glucose.

GrlA/B : Sous-unité A/B de la **topoisomérase IV**.

GyrA/B : Sous-unité A/B de l'**ADN gyrase**.

H2S : Thiosulfate.

HEMO : Hémoculture

IMVIC : Test de L'Indole, test au rouge de Méthyle, test de Voges proskauer et test au Citrate.

Ind: Indole.

Kb: kilobase.

Kp: *Klebsiella pneumoniae*.

Lac: Lactose.

LDC: lysine decarboxylase.

LPS : lipopolysaccharides.

MecA : gène de résistance à la méthicilline A.

Mef : Macrolide Efflux.

MH : Mueller-Hinton.

MLS : Les macrolides, lincosamides et streptogramines.

Mob : Mobilité.

Msr : Macrolide Streptogramin Résistance.

NorA : Norfloxacine Résistance A.

NRS : le service nurserie

ODC: ornithine decarboxylase.

ONP: Ortho-Nitro-Phénol.

ONPG: Ortho-Nitro-Phényl-Galactopyranoside.

OXA : Oxacilline.

Par c : Partition gene C.

PDA : Phenylalanine deaminase.

PEFLOXA : Pefloxacine.

PEN : Pénicilline.

PLP : Protéine Liant les Pénicillines.

PVL : Leucocidine de Panton Valentine.

Qnr : Quinolone Resistance.

R : Résistant.

REA : Réanimation.

RM : Rouge de méthyle.

RmtB : Ribosomal methyltransferase B (Méthyltransférase ribosomique B).

RmtD2 : Méthyltransférase ribosomique D2.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Meticilline.

SCCmec : Staphylococcal Cassette Chromosome mec.

SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative.

SCP : Staphylocoques à Coagulase Positive.

SHV-1 : Sulphydryl Variable 1.

SULFA-TRIMET : Sulfaméthoxazole + Triméthoprime.

TA : Terrain ambulatoire.

TEM-1 : première β -lactamase TEM (nom donné d'après la patiente **Temoniera**, chez qui la première enzyme a été isolée) identifiée.

TETRA : Tétracycline

TIC : Ticarcilline

TSI : Triple Suger Iron.

TSST-1 : Toxic Shock Syndrome Toxin-1.

Vga : Gène de pompe d'efflux contre streptogramines A.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

VP : Voges-Proskauer

LISTES DES PHOTOGRAPHIES



Listes des photographies

Photographie N°1 : *S.aureus*.

Photographie N°2 : Images en "bouchon de champagne" révélant la présence d'une EBLSE par la synergie entre un disque de céfotaxime (CTX), de céftazidime (CAZ) et Aztréoname (ATM) avec l'acide clavulanique présent dans le disque AMC.

Photographie N°3 : *S.aureus*.

Photographie N°4 : Entérobactéries.

Photographie N°5 : *S.aureus*.

Photographie N°6 : *E. coli*.

Photographie N°7 : *Klebsiella pneumoniae*.

Photographie N°8 : Souches *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE (test synergie positif).

Photographie N°9 : Souches *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE (test de double disque positif).

Photographie N°10 : L'activité antibactérienne de la propolis par les méthodes de diffusion en disque et en puits.

LISTES DES FIGURES



Listes des figures

Figure N°1 : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 10000).

Figure N°2 : Culture des Entérobactéries sur Hectoen.

Figure N°3 : Prévalence des SARM et EBLSE isolées durant la période 2022- mars 2025.

Figure N°4 : Evolution en pourcentage de la fréquence des SARM isolées sur la période 2022-2025.

Figure N°5 : Evolution en pourcentage de la fréquence des EBLSE isolées sur la période 2022-2025.

Figure N°6 : Répartition des EBLSE et SARM selon le site infectieux.

Figure N°7 : Répartition des EBLSE isolées selon la nature des espèces bactériennes 2022-2025.

Figure N°8 : La distribution des souches EBLSE dans les infections urinaires.

Figure N°9 : Profil de résistance des souches BLSE.

Figure N°10 : Profil de résistance des souches SARM.

Figure N°11 : Répartition selon le sexe des cas infectés par les bactéries SARM et BLSE.

LISTES DES TABLEAUX



Listes des tableaux

Tableau N°1 : Principaux caractères biochimiques des Entérobactéries.

Tableau N°2 : Les mécanismes de résistance et leurs conséquences (Sylvie C.,2009).

Tableau N°3 : Listes antibiotiques testés pour les entérobactéries selon les recommandations du Réseau Algérien de la Surveillance de la Resistance des Bactéries aux Antibiotiques (Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale, 2011).

Tableau N°4 : Listes antibiotiques testés pour *S. aureus* selon les recommandations du Réseau Algérien de la Surveillance de la Resistance des Bactéries aux Antibiotiques (Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale, 2011).

Tableau N°5 : Évaluation des bactéries multi résistantes EBLSE par secteur de soins.

Tableau N°6 : Évaluation des bactéries multi résistantes SARM par secteur de soins.

Tableau N°7 : Résultats de la galerie classique chez les entérobactéries.

Tableau N°8 : Résultats de test du double disque.

Tableau N°9 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'EEP avec les SARM.

INTRODUCTION

Introduction

La résistance bactérienne aux antibiotiques représente aujourd’hui un enjeu de santé publique à l’échelle mondiale, en raison de ses conséquences directes sur la morbidité et la mortalité. Cette problématique est aggravée par une utilisation excessive ou inappropriée des antibiotiques, ainsi que par la propagation rapide des résistances dans de nombreux pays.

En Algérie, on observe une augmentation inquiétante des infections causées par des bactéries multirésistantes (BMR) dans les structures hospitalières, ce qui souligne l’urgence d’approfondir la compréhension des mécanismes de résistance afin de mieux les maîtriser (**Kalla et al., 2023**).

Parmi ces BMR, deux groupes bactériens posent un problème particulièrement préoccupant : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et les entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE). Les souches de SARM se caractérisent par une résistance à toutes les pénicillines et à la majorité des β-lactamines, en raison de leur plasticité génomique, facilitée par des éléments mobiles tels que les plasmides, transposons, bactériophages ou cassettes chromosomiques. Cette capacité d’adaptation rapide compromet l’efficacité de nombreux traitements (**Alioua., 2015**).

De leur côté, les entérobactéries fréquemment impliquées dans des infections comme les abcès, pneumonies, méningites et cystites présentent également un fort potentiel de résistance. Leur aptitude à devenir multirésistantes en fait une menace majeure, tant en milieu hospitalier que communautaire (**Diagne et al., 2018**). L’émergence de souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) s’explique principalement par l’acquisition de gènes codant pour des BLSE, notamment TEM, SHV, CTX-M et leurs dérivés. Ces enzymes confèrent une résistance étendue à la majorité des β-lactamines, à l’exception des céphamycines et des carbapénèmes. Bien qu’elles soient partiellement sensibles aux inhibiteurs de β-lactamases, leur activité reste difficile à contrôler. Le fait que ces gènes soient souvent portés par des éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides, favorise leur dissémination à grande échelle, contribuant ainsi à la propagation mondiale de ces pathogènes (**Bradford., 2001**).

En Algérie, la situation est préoccupante, comme le souligne le Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance aux Antibiotiques (AARN), qui rapporte dans son dernier rapport pour l’année (2022-2023) un taux national moyen de 42,5 % pour SARM avec une prédominance dans les services de réanimation 53,25% et chirurgie 42,44%. Concernant les

INTRODUCTION

EBLSE, AARN rapporte une prévalence moyenne de 23,35% avec prédominance de *Klebsiella pneumoniae* 68,10% en pédiatrie. Illustrant une forte dissémination de ces souches dans les hôpitaux et la communauté.

Face à l'augmentation continue des bactéries multirésistantes, la médecine moderne se heurte à une véritable impasse thérapeutique. De nombreuses classes d'antibiotiques deviennent inefficaces, et le développement de nouvelles molécules reste lent, coûteux et limité face à la capacité d'adaptation rapide des pathogènes (Ventola., 2015).

Cette crise mondiale pousse la recherche biomédicale à explorer des alternatives naturelles dotées d'activités antimicrobiennes, notamment les produits issus de l'apithérapie comme la propolis.

La propolis, une substance résineuse produite par les abeilles attire de plus en plus l'attention pour ses propriétés antimicrobiennes. Riche en flavonoïdes, phénols et acides aromatiques, à l'origine de ses puissantes propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales (Silici et Kutluca., 2005). Elle a une activité inhibitrice significative contre plusieurs souches bactériennes résistantes y compris les SARM et certaines BLSE.

Grâce à son potentiel thérapeutique large et sa faible toxicité, la propolis apparaît ainsi comme une piste prometteuse pour pallier les limites actuelles des antibiotiques classiques et contribuer à lutter contre l'antibiorésistance.

Dans ce contexte, nous proposons cette étude qui a comme objectifs :

- L'étude du profil épidémiologique des germes multi résistants SARM et EBLSE isolés au niveau de la pédiatrie d'El Mansourah Constantine entre 2022 et avril 2025 ;
- Isolement, détection et étude du profil de résistance des souches SARM et des EBLSE ;
- Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) vis-à-vis des souches sélectionnées comme étant SARM et EBLSE.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités

1. Généralités sur *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des Cocci à Gram positif, immobiles, non sporulés, réunis en amas, aéro-anaérobies facultatifs, catalase positive, oxydase négative, fermentent les glucides. On distingue deux grands groupes de staphylocoques :

Les staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme les plus pathogènes dont le chef de file est *Staphylococcus aureus*.

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN), qui sont incapables de produire de la coagulase, réputés moins dangereux regroupant une vingtaine d'espèces (**Gaël., 2012**).

1.1 Taxonomie

Selon la 9ème édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classes parmi les bactéries à coloration de Gram positive pauvres en GC (guanine-cytosine), dans le phylum des firmicutes :

Règne : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (**Joffin et Leyral., 2001**).

1.2 Habitat

Staphylococcus aureus est répandu dans la nature et vit souvent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud.

Cependant, une fois éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement.

Le site de colonisation préférentielle de *S. aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. En effet, 30 % des adultes hébergent *S. aureus* de façon permanente, 50 % de façon intermittente, tandis que 20 % ne sont jamais porteurs. A partir des sites de portage, *S. aureus* colonise les territoires cutanés en particulier, les zones humides (aisselles, périnée) et les mains.

La transmission intra ou interhumaine s'opère généralement par contact direct (manuportage). Plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux) (**Wertheim et al., 2005**).

1.3 Caractères bactériologiques

1.3.1 Caractères morphologiques

S. aureus se présente sous l'aspect de Coccis à Gram positif, de 0,8 à 1 µm de diamètre, isolés, en diplocoques, en tétrades ou groupés en amas évoquant l'aspect en « grappe de raisin ». Elle est immobile, non sporulé.

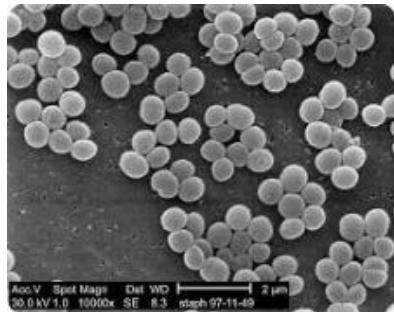


Figure N° 1 : Aspect de *S.aureus* en microscopie électronique (X 10000)

(w.fr.m.wiktionary.org)

1.3.2 Caractères culturaux

S. aureus est aérobio, anaérobio facultatif et pousse facilement sur milieu ordinaire. La température de croissance optimale est de 37 °C (de 10 °C à 45 °C) et le pH optimal est de 7,5. Mais de grandes variations de pH et de température sont tolérées.

La plupart des souches produisent un pigment jaune-citron.

S. aureus tolère le sel et pousse dans un milieu contenant 75 % de NaCl (milieu de CHAPMAN) qui est utilisé comme milieu sélectif.

Les colonies apparaissent lisses, rondes, bombées, pigmentées en jaune. Une hémolyse de type β est généralement présente sur gélose au sang de mouton. (**Tristan et Rasigade., 2019**).

1.3.3 Caractères biochimiques

S. aureus possède une catalase, mais pas une oxydase. Il attaque le glucose, le mannitol et nombreux sucres.

Il est indole -, acétoïne +, urease +, réduit les nitrates en nitrites, le tellurite de potassium, produit de l'ammoniaque à partir de l'arginine. (**Oumar., 2013**).

1.4 Pouvoir pathogène

S. aureus cause principalement des infections de la peau et des tissus mous : abcès, furoncle, folliculite, impétigo, cellulite. Il peut également causer des infections profondes : endocardite, péritonite, pneumonie nécrosante, bactériémie, méningite, ostéomyélite, arthrite septique et infections des os, des articulations et des organes. Il est responsable de syndromes liés aux

Chapitre I : Généralités

effets des toxines produites par la bactérie, par exemple le syndrome du choc toxique et l'intoxication alimentaire.

Chez les patients hospitalisés, *S. aureus*, dont le SARM hospitalier, est le principal responsable de plusieurs types d'infections nosocomiales, notamment des infections de plaies post-opératoires ou de cathéter, des pneumonies et des septicémies.

La diversité des tableaux cliniques provoqués par *S. aureus* est liée à la diversité des facteurs de virulence qui peuvent être hébergés par cette espèce.
(<https://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/fichiers/guide-garderie/chap7-staphylococcus-sarm.pdf>)

1.5 Facteurs de virulence et physiopathologie de *Staphylococcus aureus*

S. aureus possède de nombreux facteurs de virulence : des protéines de surface ; des cytotoxines ; des enzymes et des superantigènes.

Les différentes étapes de l'infection staphylococcique impliquent des panels différents de facteurs de virulence : la phase initiale de l'infection requiert des protéines de surface pour lier la matrice extracellulaire et coloniser les tissus, tandis que la phase de dissémination de l'infection nécessite des exoprotéines.

Parmi les facteurs de virulence, on distingue donc des protéines de surface (adhésines) qui permettent la colonisation de l'hôte, des facteurs qui conduisent au développement et à l'extension de l'infection et des toxines spécifiques responsables de syndromes toxiniques (Tristan et Rasigade., 2019).

1.5.1 Protéines de surface : Colonisation

S. aureus colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. *S. aureus* possède un grand nombre de protéines exposées à sa surface, qui ont la capacité de se fixer sur des molécules de l'hôte. On parle ainsi d'adhésines.

Parmi ces protéines, les mieux caractérisées sont la protéine A, la protéine de liaison au collagène de type I, II et IV, les protéines de liaison à la fibronectine et les protéines de liaison au fibrinogène , Clumping factor (ClfA, ClfB)

(https://fmos.usttb.edu.ml/cours/pluginfile.php/24218/mod_resource/content/0/STAPHYLOCOCCUS%20AUREUS.pdf).

1.5.2 Facteurs protégeant la bactérie de la phagocytose

La majorité des souches cliniques de *S. aureus* produisent une **capsule** composée d'exopolysaccharides qui, avec la protéine A, protègent la bactérie de la phagocytose et favorisent ainsi l'extension de l'infection.

Un autre facteur, la **coagulase**, se lie à la prothrombine et forme un complexe appelé staphylothrombine. Le complexe staphylothrombinique entraîne la polymérisation du fibrinogène en fibrine et la formation d'un caillot qui protège également la bactérie de la phagocytose (Tristan et Rasigade., 2019).

1.5.3 Facteurs conduisant à l'extension de l'infection

- **Extension locale** : *S. aureus* produit plusieurs toxines qui ciblent les membranes cellulaires. On peut citer les hémolysines A, B et D et les toxines synergohyménotropes. D'autres enzymes produites par *S. aureus* sont capables de dégrader le tissu conjonctif et favorisent l'extension du foyer infecté, dont les **protéases**, **l'élastase** et la **hyaluronidase**.
- **Diffusion hématogène** : La diffusion hématogène de *S. aureus* à partir du foyer primaire se fait probablement par le biais de thrombophlébites locales où la **coagulase** joue un rôle majeur. La coagulase entraîne la formation d'un caillot autour des bactéries. La **staphylokinase**, activateur du plasminogène en plasmine exerce un effet inverse à celui de la coagulase. Elle conduit à la dislocation du thrombus riche en bactéries et ainsi à la formation de localisations septiques secondaires.
- **Toxines**
 - **Exfoliatines** : Les exfoliatines A et B sont à l'origine du syndrome d'exfoliation généralisé et de l'impétigo bulleux staphylococcique.
 - **Toxines super-antigéniques** : Les super-antigènes sont un groupe de molécules capables de provoquer une activation polyclonale des lymphocytes T.
 - Les toxines staphylococciques ayant une activité super-antigénique sont la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) et les entérotoxines A à E, G, et I à U.
 - **Leucocidine de Panton Valentine** : La leucocidine de Panton Valentine ou PVL est une toxine à deux composants agissant de façon synergique sur les membranes cellulaires (toxine synergohyménotrope). In vitro, la PVL induit la lyse de plusieurs cellules participant aux défenses de l'hôte comme les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, et les macrophages. Les souches de *S. aureus* PVL+ sont classiquement associées aux infections cutanées (Tristan et Rasigade., 2019).

2. Généralités sur les Entérobactéries

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries Gram-négatif, responsables de maladies de gravité variable en raison de mécanismes pathogéniques distincts. Elles regroupent de nombreux genres biochimiquement et génétiquement apparentés, dont plusieurs sont impliqués dans des infections primaires du tractus gastro-intestinal humain.

De plus, elles sont des causes majeures d'infections opportunistes, telles que la septicémie, la pneumonie, la méningite et les infections urinaires. Ces bactéries constituent plus de 80 % des germes isolés en laboratoire, parmi lesquels on retrouve fréquemment *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella* et *Yersinia*. (Avril et al., 2000)

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*), soit encore saprophytes (*Serratia sp*, *Enterobacter*) (Decoster., 2005).

2.1 Classification

La taxonomie des entérobactéries a été révisée grâce au séquençage de l'ARN 16S, rendant obsolète l'ancienne classification basée sur les caractères biochimiques.

Elles sont classées comme suit :

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gamma Proteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : *Enterobacteriaceae*

Cette famille comprend environ 40 genres, dont les plus cliniquement importants sont : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Providencia*, *Hafnia* et *Yersinia* (Renaud., 2019).

2.2 Habitat

Le nom d'entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, suivant les espèces microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux. Mais ce caractère écologique n'est pas exclusif, on les retrouve également en abondance dans l'environnement « sols et eaux » et participent aux grands cycles de dégradation des matières organiques. (Mhaya., 2019)

2.3 Caractères bactériologiques

2.3.1 Caractères morphologiques

Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatif, généralement courts (1 à 6 µm), de forme droite. Elles peuvent être immobiles ou mobiles grâce à des flagelles répartis sur toute la surface (ciliature péritriche). (Renaud., 2019)

2.3.2 Caractères culturaux

Les entérobactéries poussent facilement en aérobiose ou anaérobiose sur milieux ordinaires, à 35–37 °C. Après 18–24 h, les colonies mesurent généralement **1,5 à 3 mm**. Certaines espèces (*Shigella*, *Yersinia*) ont une croissance lente nécessitant **au moins 48 h**.

Des **colonies naines** peuvent apparaître chez des mutants déficients en facteurs de croissance, nécessitant des milieux enrichis (sang, sérum). **Sur gélose** on peut obtenir différentes formes de colonies :

- **Les formes S (smooth)**, sont l'aspect habituel. Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles sont à 2 à 4 mm de diamètre.
- **Les formes R (rough)**, s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate.
- **Muqueuses**, grandes (**jusqu'à 10 mm**), gélatineuses, souvent capsulées (ex. *Klebsiella pneumoniae*). (Camille., 2021)

2.3.3 Caractères antigéniques

Les entérobactéries possèdent plusieurs types d'antigènes qui jouent un rôle clé dans leur identification et la réponse immunitaire.

- **L'antigène O**, présent sur la paroi cellulaire sous forme de lipopolysaccharides (LPS) thermostables, responsable de la toxicité (endotoxine) et peut provoquer des symptômes graves comme la fièvre et l'hypotension. Il permet de classer les bactéries en sérotypes grâce à des tests d'agglutination.
- **L'antigène H**, présent sur les flagelles des entérobactéries mobiles, est constitué de flagelline thermolabile et permet également un diagnostic sérologique.
- **L'antigène K (ou Vi)**, situé sur la capsule, peut masquer l'antigène O et est de nature polysaccharidique.
- **L'antigène de Kunin** est un glycophospholipide spécifique des entérobactéries, et enfin, **les antigènes d'adhésines (fimbriae ou pili)** sont impliqués dans l'adhésion des bactéries aux surfaces (Douhan., 2021).

2.3.4 Caractères biochimiques

Les **caractères biochimiques** des entérobactéries incluent leur capacité à être **aéro-anaérobies facultatives**, permettant un métabolisme flexible entre respiration et fermentation selon la présence d'oxygène.

Elles fermentent le **glucose** et réduisent le **nitrate en nitrite**, tout en étant **oxydase négatives**. La fermentation peut emprunter deux principales voies : la **fermentation acide mixte**, qui produit des acides tels que l'acide lactique, acétique, et formique, et la **fermentation butanediolique**, qui génère de l'acétoïne. Ces voies sont détectées respectivement par des indicateurs de pH et la réaction **Voges-Proskauer**.

D'autres tests biochimiques, comme la fermentation de sucres spécifiques, la production d'indole, d'hydrogène sulfuré et l'activité enzymatique (bêta-galactosidase, uréase, gélatinase), contribuent également à leur identification précise. (Camille., 2021).

Tableau N°1 : Principaux caractères biochimiques des Entérobactéries (Aberkane.,2024).

	Glu	Lac	ONPG	Ind	VP	Cit	Mob	Urée	PDA	H2S
<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, **Ind**: Indole, **Cit**: Citrate, **Mob**: Mobilité, **PDA**: Phenylalanine deaminase, **ONPG**: Ortho-Nitro-Phényl-Galactopyranoside, **H2S**: Thiosulfate.

2.4 Pouvoir pathogène

Les **entérobactéries** peuvent être **pathogènes opportunistes**, souvent rencontrées en milieu hospitalier, où elles causent des infections nosocomiales telles que des infections urinaires,

pneumonies, infections de plaies et septicémie, principalement chez des patients affaiblis. Leur fréquence croissante est liée à la présence de plasmides résistants aux antibiotiques, qui favorisent leur sélection et perturbent l'équilibre microbien. Elles peuvent aussi être **pathogènes spécifiques**, responsables de syndromes digestifs, d'infections urinaires et de maladies comme la peste. (Maïmouna., 2020)

➤ *Escherichia coli*

Appelée communément « colibacille » cette espèce est commensale du tube digestif des humains et des animaux à sang chaud.

Elle possède des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des espèces voisines. La production d'indole à partir de tryptophane, l'absence d'utilisation du citrate comme source de carbone et l'absence de production d'acétoïne (réaction de Voges- Proskauer négative) (Souna., 2011).

Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant, ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes) (Aberkane., 2024). C'est une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologies humaine (Souna., 2011).

Chez l'homme, *E.coli* peut être responsable d'un nombre varié de pathologie. Toutefois, trois types de syndromes majeurs résultent de l'infection par *E.coli* pathogènes : infections urinaires (impliqué dans 80 % des infections urinaires), les infections digestives (diarrhées, infections hépatobiliaires et autres), et les méningites néonatales et septicémies (Lagha., 2015).

➤ *Klebsiella pneumoniae*

Les *Klebsiella* sont très répandues dans la nature (eaux, sols). Ce sont des commensaux du tube digestif des animaux et de l'homme qui peut également en héberger dans l'oropharynx.

Les *Klebsiella* sont des entérobactéries immobiles et capsulées fermentent de nombreux sucres avec production de gaz, mais elles ne sont pas protéolytiques. Sur milieu gélosé, les colonies sont caractéristiques : elles sont volumineuses, bombées, brillantes et très visqueuses à cause de la capsule (Souna., 2011)

On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae* très répandu dans la nature (sol et eau), saprophyte des voies respiratoires supérieures et il est l'agent des surinfections respiratoires.

Klebsiella pneumoniae est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères. De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie

ont été décrites, notamment chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques (**Souna., 2011**).

Sa capacité à accumuler des résistances rend son traitement difficile et contribue à une morbidité et une mortalité élevées (**Sonnet., 2020**).

3. Généralités sur la propolis

3.1 Définition

La propolis, dont le nom vient du grec pro (devant, à l'entrée) et polis (ville), est une substance naturelle produite par des abeilles ouvrières spécialisées. Elle est issue de résines végétales sécrétées par certains végétaux pour se défendre, notamment contre les champignons ou le froid. Ces résines sont collectées par les abeilles sur les bourgeons, les feuilles, les tiges ou les fleurs. Elles y ajoutent ensuite leurs propres sécrétions « cire, salive et enzymes (comme la β -glucosidase produite par les glandes hypopharyngiennes) » pour transformer cette matière en propolis, qu'elles utilisent pour protéger et assainir la ruche. Cette substance est donc d'origine mixte, à la fois végétale et animale. (**Debab., 2020**).

3.2 Composition de la propolis

La composition de la propolis est très variable selon l'environnement, la saison et la végétation locale, pouvant contenir jusqu'à 300 composants. En général, elle est composée de 55 % de résines et baumes, 30 % de cire, 7 % d'huiles essentielles, et 5 % de pollen et autres substances. Elle contient aussi des acides, flavonoïdes, vitamines, minéraux (calcium, zinc, chrome) et parfois des contaminants comme des pesticides ou des métaux lourds, selon la pollution locale. Bien que les flavonoïdes aient été considérés comme les principaux composants actifs, des recherches récentes ont mis en lumière d'autres substances. Chaque propolis est donc unique, mais sa composition reste stable dans le temps grâce à la stabilité chimique de certains de ses éléments (**Preziosi., 2024**).

3.3 Activités biologiques

La propolis possède une **forte activité antibactérienne**, attribuée principalement à sa richesse en **flavonoïdes, acides phénoliques et esters aromatiques**. Elle agit à la fois sur les bactéries à **Gram positif** comme *Staphylococcus aureus*, et sur certaines bactéries à **Gram négatif** telles que *Escherichia coli*. Son mode d'action repose sur plusieurs mécanismes : **perturbation de la membrane cellulaire, inhibition de la synthèse des protéines et des acides nucléiques**, ainsi que la **désactivation d'enzymes bactériennes**. La propolis est particulièrement intéressante dans la lutte contre les **bactéries multirésistantes**, ce qui en fait

Chapitre I : Généralités

un **candidat prometteur** pour le développement de nouvelles alternatives thérapeutiques face à l'antibiorésistance croissante.

En plus de son effet antibactérien, la propolis présente une **large gamme d'activités thérapeutiques**. Elle possède des propriétés **antifongiques**, efficaces contre diverses espèces de *Candida* et *Aspergillus*, ainsi qu'une **activité antivirale**, en inhibant la réplication de virus tels que l'herpès, la grippe ou le VIH. Son **effet antiparasitaire** a été démontré contre des protozoaires comme *Giardia lamblia* et *Leishmania*.

Grâce à sa richesse en flavonoïdes, la propolis agit également comme un **puissant antioxydant**, protégeant les cellules contre le stress oxydatif. Elle exerce par ailleurs des **effets hépatoprotecteurs**, en préservant la fonction hépatique face aux substances toxiques, et montre une **activité immunomodulatrice**, capable de renforcer ou réguler la réponse immunitaire. D'autres propriétés ont été rapportées, telles que des effets **anti-inflammatoires**, cicatrisants, antitumoraux et neuroprotecteurs, renforçant son intérêt en tant qu'agent thérapeutique naturel polyvalent (**Soltani, 2017**).

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

1. Définition

La résistance bactérienne aux antibiotiques correspond à l'inefficacité d'un antibiotique à la dose habituelle au site de l'infection. Elle peut être due à des mutations génétiques ou à l'acquisition de gènes de résistance.

Une souche est dite résistante si elle continue à se développer malgré des concentrations élevées d'antibiotique normalement efficaces pour ce type de bactérie. (Lemdani A., et al. 2023)

2. Types de résistance

2.1. Résistance naturelle

Un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle est stable et transmise à la descendance, elle a pour support génétique le chromosome bactérien (Serge., 2017).

2.2. Résistance acquise

Les résistances acquises apparaissent lorsque les bactéries développent une capacité à résister à un antibiotique qu'elles étaient auparavant sensibles. Cela peut se produire soit par la sélection de mutants déjà présents naturellement dans la population bactérienne, soit par l'acquisition de nouveaux gènes de résistance via des mécanismes de transfert génétique. Ce transfert peut se faire par l'intermédiaire d'éléments mobiles tels que les plasmides, les transposons ou les intégrons, ou encore par transformation, c'est-à-dire l'absorption d'ADN libre présent dans l'environnement (Cavollo., 2005).

3. Mécanismes de résistance

Les bactéries ont su développer des mécanismes divers et variés afin d'inhiber l'action des antibiotiques utilisés en thérapeutique. Les principaux mécanismes sont l'inactivation enzymatique, la modification de la cible de l'antibiotique, la diminution de la perméabilité de la paroi bactérienne, et la mise en place ou la multiplication de systèmes d'efflux (Tableau N°2). Une même souche bactérienne peut cumuler plusieurs de ces mécanismes (Mainardi et al., 1996).

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

Tableau N°2 : Les mécanismes de résistance et leurs conséquences (Sylvie, 2009)

Mécanismes de résistance	Conséquences
Inhibition enzymatique	Production d'une enzyme qui inactive ou détruit l'antibiotique ; Mécanisme de résistance le plus répandu.
Pompes à efflux	Antibiotique éjecté de la cellule par transport actif et site d'action devenant inaccessible.
Réduction de la perméabilité cellulaire	Changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant le médicament d'atteindre sa cible.
Altération des sites de liaison ciblés par l'antibiotique	Baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action.

4. Résistance aux β -lactamines

Les β -lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés dans la pratique clinique courante surtout dans le traitement des infections dues aux entérobactéries pour leur efficacité et leur faible toxicité.

Elles regroupent plusieurs familles d'antibiotiques : les pénicillines, les céphalosporines (1re à 5e génération), les carbapénèmes, les monobactames, ainsi que les inhibiteurs de β -lactamases. Elles ont une structure chimique commune (un noyau β -lactame) correspondant à un mécanisme d'action commun : ils agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne en se liant aux PLP (protéine liant les pénicillines), grâce à leur structure imitant le D-Ala-D-Ala (Renaud., 2019).

4.1. Résistance de *S. aureus* aux β -lactamines

La résistance des staphylocoques aux β -lactamines repose sur deux mécanismes principaux, communs aux *S. aureus* et aux staphylocoques à coagulase négative (SCN).

Le premier est extrinsèque, lié à la production d'enzymes qui inactivent l'antibiotique, et le second est intrinsèque, dû à la modification ou à l'acquisition de protéines de liaison à la pénicilline (PLP). (Quincampoix et Mainardi., 2001)

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

4.1.1 Résistance par production de β -lactamases (pénicillinases)

Une β -lactamase est une enzyme qui hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines, les rendant inactives. L'existence d'une pénicillinase entraîne une résistance à la pénicilline G et aux pénicillines A (ampicilline, amoxicilline, etc.), aux carboxypénicillines (ticarcilline), et aux uréidopénicillines (pipéracilline).

Ce mode de résistance est présent chez 90 % des isolats cliniques de *S. aureus* (Mainardi et al., 1996).

Le gène blaZ codant pour les pénicillinases des staphylocoques peut être porté soit par un transposon soit être chromosomique. La production de β -lactamases peut être constitutive ou, le plus souvent, inducible. L'activité des β -lactamines est restaurée en présence d'un inhibiteur de β -lactamases de type acide clavulanique, tazobactame ou sulbactam (Quincampoix et Mainardi., 2001).

4.1.2 Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle : la PLP2a

Les PLP sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyl transférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédant une affinité pour les β -lactamines. (Quincampoix et Mainardi., 2001).

4.1.3 Résistance à la méthicilline

La résistance à la méticilline, qui entraîne une résistance à toutes les β -lactamines, est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (mecA) qui code pour une nouvelle PLP qui code pour une PLP2a.

Cette PLP additionnelle a moins d'affinité pour les β -lactamines et en particulier pour la méticilline. Ce mécanisme est présent chez les *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) et chez les *Staphylococcus* à coagulase négative.

La PLP2a, ayant une faible affinité pour les bêtalactamines, n'est pas affectée par ces antibiotiques et permet ainsi à la bactérie de continuer la biosynthèse de sa paroi. Cette résistance est située sur un élément mobile de résistance, la cassette SCCmec (Touaitia., 2016)

➤ Gène mecA

Le temps zéro de l'évolution des SARM est l'acquisition du gène mecA, fragment d'ADN de 2,1 kb codant une protéine liant la pénicilline additionnelle (PLP2a). Les souches de *S. aureus* possédant le gène mecA sont donc résistantes à toute la famille des β -lactamines, notamment à la méticilline ou à l'oxacilline. Le gène mecA est inclus dans un élément génétique mobile : la cassette staphylococcique (SCCmec, staphylococcal cassette chromosome mec) (Dumitrescu et al., 2010).

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

4.2 Résistance des entérobactéries aux β -lactamines

Les entérobactéries peuvent développer une résistance naturelle ou acquise aux antibiotiques de la famille des β -lactamines. Plusieurs mécanismes de résistance ont été identifiés, et ils se classent principalement en trois catégories :

- **Réduction de l'accumulation de l'antibiotique**, due à une diminution de la perméabilité membranaire ou à un système d'efflux actif.
- **Altération de la cible des β -lactamines**, rendant l'antibiotique moins efficace.
- **Production d'enzymes capables d'inactiver les β -lactamines**, mécanisme fréquent chez les bacilles à Gram négatif. (Mhaya., 2019).

La résistance des entérobactéries aux β -lactamines est due principalement à la production d'enzymes (β -lactamases) capables d'hydrolyser l'anneau β -lactame commun à cette classe d'antibiotiques.

4.2.1 Résistance enzymatique des entérobactéries aux β -lactamines

Les β -lactamases se déclinent en plusieurs types selon leur spectre d'action :

- **Pénicillinases**
- **Céphalosporinases**
- **BLSE (β -lactamases à spectre étendu)**
- **Carbapénémases**

➤ β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes bactériennes apparues dans les années 1980, issues de mutations de β -lactamases naturelles comme TEM-1, TEM-2 ou SHV-1, ou transmises par plasmides.

Les BLSE possèdent un spectre de substrat large qui comprend les pénicillines, les céphalosporines ainsi que l'aztréonam, mais qui épargne les céphamycines et les carbapénèmes. La très grande majorité des BLSE sont des enzymes de la classe A d'Ambler qui sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactame.

Cette propriété se manifeste par une synergie entre les C3G, les céphalosporines de 4^{ème} génération (C4G) ou l'aztréonam et l'acide clavulanique. C'est sur ce phénomène de synergie que reposent les différentes techniques de détection des BLSE de classe A, la plus courante étant la recherche d'une « image de synergie » entre un disque de C3G (ou C4G ou aztréonam) et un disque contenant de l'acide clavulanique (Cattoir., 2008).

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

Elles sont classées selon deux systèmes principaux :

- **La classification d'Ambler**, basée sur la structure moléculaire, distingue quatre classes : A, B, C et D.
- **La classification de Bush-Jacoby-Medeiros**, fondée sur les propriétés fonctionnelles, prend en compte l'activité enzymatique et la sensibilité aux inhibiteurs. (**Renaud., 2019** ; **Vora et al., 2009**).

➤ Types de BLSE

Les principaux types de BLSE sont classés selon **l'origine génétique, la structure enzymatique et le profil d'hydrolyse**.

- Les **TEM et SHV (classe A)** proviennent de pénicillinases modifiées par mutation, capables d'hydrolyser les céphalosporines de 3e génération.
- Les **OXA (classe D)** dérivent d'enzymes à spectre étroit transformées par mutation, avec une activité variable sur certaines β -lactamines.
- Les **CTX-M** sont issues de gènes environnementaux acquis par transfert, avec une forte affinité pour le céfotaxime.

Avant 2002, les BLSE de types TEM et SHV étaient majoritaires, et étaient isolées en milieu hospitalier, essentiellement chez *Klebsiella pneumoniae*.

Aujourd'hui CTX-M est la BLSE la plus souvent isolée dans le monde, notamment CTX-M-15, qui est surtout retrouvé chez *Escherichia coli* dont la propension à transmettre son matériel génétique est bien connue.

Ainsi, tandis que SHV et TEM demeuraient principalement cantonnés à l'hôpital, de son côté CTX-M diffusait beaucoup plus largement dans la communauté, notamment au cours d'infections urinaires et de bactériémies (**Renaud., 2019** ; **Cattoen., 2011**).

5. Résistance aux aminosides

Les aminosides forment une famille homogène d'antibiotiques à action bactéricide, utilisés principalement dans le traitement des infections sévères. Ils sont efficaces contre un large éventail de bactéries, qu'elles soient à Gram négatif ou à Gram positif. (https://www.sfpediatrie.com/sites/www.sfpediatrie.com/files/medias/documents/aminosides_afssaps.pdf)

Les aminosides bloquent la synthèse des protéines en perturbant la lecture de l'ARN au niveau du ribosome 30S, entraînant la mort cellulaire. Ils agissent aussi sur la membrane, l'ADN et

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

l'ARN. Leur efficacité dépend d'un environnement aérobie et peut être réduite par un pH acide, des biofilms ou des débris cellulaires. (Pauline., 2019).

5.1 Résistance de *Staphylococcus aureus* aux aminosides

La résistance aux aminosides repose sur trois mécanismes principaux : des mutations modifiant la cible ribosomale, des altérations du transport de l'antibiotique, et surtout l'inactivation enzymatique. Cette dernière, fréquente, est due à des enzymes codées par des gènes mobiles, qui modifient la molécule par phosphorylation, nucléotidylation ou acétylation (Hajjej., 2016).

5.2 Résistance des entérobactéries aux aminosides

Le mécanisme de résistance principal aux aminoglycosides est l'acquisition d'enzymes bactériennes qui modifient les antibiotiques par acétyltransférase (AAC), adényltransférase (ANT) ou phosphotransférase (APH).

La diminution de l'accumulation de l'antibiotique est un autre mécanisme majeur de résistance. Les bactéries peuvent exprimer des systèmes d'efflux qui résultent d'une accumulation réduite des aminosides à l'intérieur de la cellule.

La méthylation de l'ARNr 16S au sein de la sous-unité 30S des espèces comme *Escherichia coli* et *Klebsiella* altère la fixation des aminosides, ce qui bloque leurs activités antimicrobiennes (Doi et Arakawa., 2007).

La résistance aux aminosides peut être due à des mutations ou à la méthylation de l'ARN 16S, empêchant leur fixation sur le ribosome. Les mutations confèrent une résistance limitée (streptomycine, spectinomycine), tandis que la **méthylation**, notamment par les enzymes **ArmA, RmtB et RmtD2**, entraîne une **résistance élevée à presque tous les aminosides** (sauf la streptomycine). Ces gènes, souvent portés par des plasmides conjugatifs, ont été détectés dans plusieurs pays, y compris en Algérie (Khennouchi., 2016).

6. Résistance aux Macrolides

Les macrolides sont des molécules à propriétés antibiotiques bactériostatiques. Elles constituent une famille d'antibiotiques capables de diffuser dans les tissus de l'organisme et à l'intérieur des cellules (<https://sante.lefigaro.fr/sante/traitement/macrolides/mecanisme-daction>).

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS), inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation du ribosome et du complexe ARN de transfert-peptide. Cela entraîne une terminaison réversible de l'elongation protéique.

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

Les macrolides et les lincosamides (lincomycine et clindamycine) n'ont qu'une activité bactériostatique sur les staphylocoques alors que les streptogramines (pristinamycine, quinupristine-dalfopristine), qui résultent de l'association de deux composés A et B agissant en synergie et possédant une activité bactéricide. (Quincampoix et Mainardi., 2001)

6.1 Résistance de *Staphylococcus aureus* aux Macrolides

Les cocci à Gram positif peuvent résister aux macrolides (MLS) par trois mécanismes principaux : la **modification de la cible**, via la méthylation de l'ARN 23S par des enzymes codées par les gènes erm ; l'**efflux actif**, empêchant l'accumulation de l'antibiotique dans la cellule grâce aux gènes msr, mef et vga ; et l'**inactivation enzymatique**, où des enzymes (hydrolases, acétyltransférases, phosphotransférases) modifient ou dégradent l'antibiotique, ces mécanismes étant souvent portés par des plasmides (Quincampoix et Mainardi., 2001).

6.2 Résistance des entérobactéries aux Macrolides

Chez les entérobactéries, la résistance aux macrolides repose sur une faible perméabilité de la membrane externe, l'expulsion active de l'antibiotique par des pompes d'efflux, et l'inactivation enzymatique via des phosphotransférases et des estérasées. (Iredell et al., 2016).

7. Résistance aux fluoroquinolones

Les quinolones et les fluoroquinolones sont des antibiotiques administrés par voie systémique ou par voie inhalée, utilisés pour traiter des infections bactériennes au cours desquelles le pronostic vital peut être engagé (<https://www.cnpm.org.dz/index.php/alertes-side/263-quinolones-et-fluoroquinolones>).

7.1 Résistance de *Staphylococcus aureus* aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones perdent leur efficacité par mutations des gènes des topo-isomérases (gyrA/B, grlA/B) et par efflux via NorA, avec une résistance fréquente et croisée, surtout chez les SAMR (>90 %) (Quincampoix et Mainardi., 2001).

7.2 Résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones

La résistance des entérobactéries aux quinolones repose principalement sur des mutations chromosomiques ciblant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, renforcées par des pompes d'efflux et une moindre perméabilité membranaire. Depuis 1998, la découverte des gènes plasmidiques qnr a révélé une transmission horizontale de la résistance, élargissant sa diffusion (Merens et Servonnet, 2010).

8. Résistance aux Glycopeptides

Les glycopeptides constituent une famille d'antibiotiques dont les deux représentants disponibles en médecine humaine sont la vancomycine et la teicoplanine. Ils agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne en bloquant la synthèse du peptidoglycane. (Bourgeois-Nicolaos et Guillet-Caruba., 2012).

8.1 Résistance de *Staphylococcus aureus* aux Glycopeptides

Les glycopeptides tels que la vancomycine et la teicoplanine inhibent la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant à l'extrémité D-Ala-D-Ala du peptidoglycane. Bien qu'efficaces contre les bactéries Gram positif comme les SARM, ils présentent plusieurs limites : activité lente, variabilité de la CMI, mauvaise pénétration, toxicité, et apparition de résistances, souvent liées à des échecs thérapeutiques (Touaitia., 2016). *Staphylococcus aureus* peut devenir résistant à la vancomycine de deux manières : par épaississement de la paroi (souches VISA ; *Staphylococcus aureus* à sensibilité intermédiaire à la vancomycine) (McGuinness et al., 2017), ou par acquisition du gène vanA provenant des entérocoques, ce qui empêche la fixation de l'antibiotique (Chang et al., 2003) (Courvalin., 2006).

8.2 Résistance des entérobactéries aux Glycopeptides

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux glycopeptides en raison de leur membrane externe qui empêche l'accès des antibiotiques à leur cible. En revanche, les entérocoques peuvent acquérir cette résistance via des gènes plasmidiques, ce qui rend les infections plus difficiles à traiter. (Deboscker., 2019).

MATERIEL

ET

METHODES

Chapitre III: Matériel et Méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Objectif

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée au laboratoire de Microbiologie de l'hôpital pédiatrique d'El Mansourah de Constantine, sur une période de trois **ans** allant de 01/2022 à 04/2025. Complétée par une étude prospective d'un mois, du 2 mars au 2 avril 2025.

Les données ont été recueillies à partir des registres et des fiches d'antibiogramme du laboratoire de microbiologie. Elles comportent les services hospitaliers, la nature des prélèvements, le sexe des patients, les bactéries isolées ainsi que les résultats des antibiogrammes.

Les objectifs de cette étude consistaient à :

- Isoler des souches multirésistantes SARM et EBLSE ;
- Mettre en évidence la prévalence SARM et des EBLSE au niveau de la pédiatrie El Mansourah Constantine ;
- Etudier le profil de résistance et de sensibilité de ces BMR vis-à-vis différentes familles d'antibiotiques ;
- Evaluer *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de propolis (EEP) vis-à-vis des souches sélectionnées comme étant SARM et BLSE.

L'étude du profil de sensibilité aux antibiotiques et l'évaluation de l'activité antibactérienne de EEP ont été faites sur 10 souches BMR (4 souches SARM et 6 souches EBLSE) isolées au cours de notre étude prospective.

Cette étude a été réalisées au Laboratoire de Microbiologie faculté des sciences de la nature, Université de Constantine 1.

2. Matériel

2.1 Souches

Notre étude porte sur des bactéries multirésistantes **SARM** et des entérobactéries **EBLSE** β -lactamases à spectre étendu.

Ces souches ont été isolées de divers produits pathologiques :

- Urine ;
- Sang ;
- Prélèvements de Bactério-Générale

Chapitre III: Matériel et Méthodes

2.2 EEP

La propolis étudiée est d'origine d'Ain Fakron (Oum El Bouaghi). L'extrait éthanolique de la propolis (EEP) est réalisé au niveau du laboratoire de biomolécules et sélection végétale du département de biologie Université de Oum El Bouaghi.

3. Méthodes

3.1 Isolement et identification des souches

L'isolement et l'identification des souches étudiées ont été réalisés par les techniques conventionnelles classiques : examen microscopique, isolement sur milieu gélosé sélectifs Chapman et Hektoen et identification biochimique.

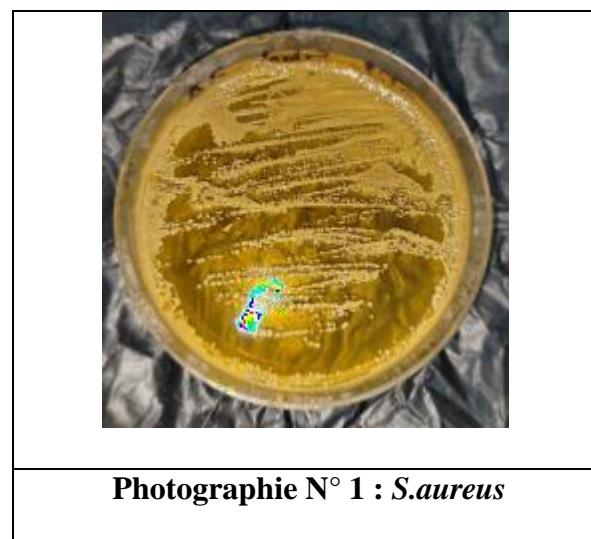
3.1.1 Examen macroscopique

L'aspect des colonies est le caractère primaire utilisé pour orienter le diagnostic bactériologique. L'examen macroscopique permet l'observation à l'œil nu de la taille, la forme, et la couleur des colonies sur leur milieu sélectif.

L'isolement des souches *Staphylococcus aureus* s'effectue sur leur milieu sélectif **Chapman**. L'incubation des bactéries se fait à 37°C pendant 18 à 24 h.

Sur la gélose **Chapman**, les colonies de *Staphylococcus aureus* sont généralement lisses, rondes, de 1 à 3 mm de diamètre, bombées et opaques dégradant le mannitol (acidification du milieu).

Elles présentent souvent une couleur **or** (jaune à jaune orangé) due aux caroténoïdes et peuvent être **hémolytiques** (Verdier et al., 2012).



L'isolement des entérobactéries se fait par ensemencement sur leur milieu sélectif **Hektoen**. C'est un milieu de culture sélectif et différentiel utilisé principalement pour l'isolement des

Chapitre III: Matériel et Méthodes

entérobactéries pathogènes telles que *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Grâce à la présence de sels biliaires et de colorants (bleu de bromothymol et fuchsine acide), elle inhibe la croissance des bactéries à Gram positif et favorise celle des entérobactéries à Gram négatif. Ce milieu permet de différencier les souches selon leur capacité à fermenter certains sucres (lactose). Le milieu ensemencé, est incubé à 37°C° pendant 24 h.

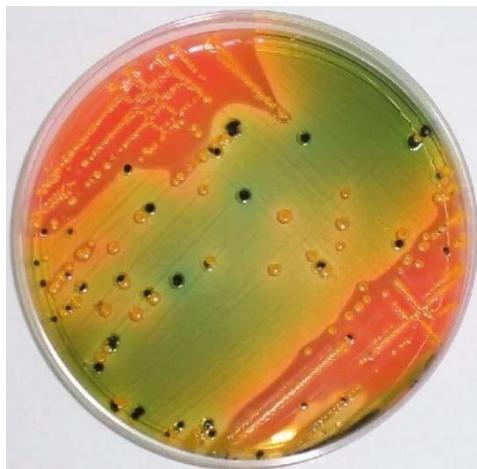


Figure N°2 : Culture des Entérobactéries sur Hectoen

3.1.2 Examen microscopique

➤ Coloration de Gram

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne afin de distinguer les bactéries à GRAM positif des bactéries à GRAM négatif. Elle est également réalisée pour déterminer la forme des cellules et le mode de regroupement.

3.1.3 Identification biochimique

➤ Identification biochimique de *Staphylococcus aureus*

L'identification biochimique des souches de *Staphylococcus aureus* repose sur la détection de l'activité catalasique et la mise en évidence de la coagulase libre.

• Recherche de la catalase

Le test catalase permet de détecter la présence de l'enzyme catalase chez une bactérie, qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène selon la réaction suivante :



Lorsqu'on ajoute du H_2O_2 à une colonie bactérienne, la formation immédiate de bulles indique une réaction positive. L'absence de bulles indique une réaction négative. (Singleton., 2005).

Chapitre III: Matériel et Méthodes

- **Recherche de la coagulase**

Le test de la coagulase permet de distinguer *Staphylococcus aureus* des autres espèces coagulase-négatives.

Staphylococcus aureus sécrète la **staphylocoagulase**, une enzyme qui active la prothrombine, initiant la coagulation du plasma. La staphylocoagulase se lie au fibrinogène, le clivant en fibrine et formant ainsi un caillot. Si un caillot se forme dans les 24 heures suivant l'ajout de bactéries au plasma, la réaction est **positive**, indiquant la présence de *Staphylococcus aureus*. L'absence de caillot signifie une réaction **négative**. (Singleton., 2005).

- **Identification des entérobactéries**

- **Test d'oxydase**

Ce test est utilisé pour identifier les microorganismes contenant l'enzyme cytochrome oxydase (importante dans la chaîne de transport des électrons). Il est à la base de l'identification des bactéries GRAM négatif.

Technique

- ✓ Placer un disque d'oxydase sur une lame propre et stérile ;
- ✓ Déposer à l'aide d'une pipette pasteur une goutte de suspension bactérienne pure sur le disque d'oxydase ;
- ✓ Les bactéries oxydases positives donnent rapidement une coloration violet foncé.

- **Galerie classique Test IMVIC**

Elle est composée d'une gamme de 4 caractères biochimiques (test de L'Indole, test au rouge de Méthyle, test de Voges proskauer et test au Citrate), particulièrement utilisée dans l'identification des entérobactéries.

- ✓ **Test d'indole**

Le test d'indole permet de savoir si un organisme peut produire de l'indole à partir de Tryptophane. En aérobiose, *Escherichia coli* dégrade le tryptophane en indole par l'intermédiaire d'une tryptophanase. L'indole produit est révélé par le réactif de Kovacs.

Technique

On ensemence la souche à tester sur une eau peptonée exempte d'indole. Après incubation de 24h à 37°C, on ajoute quelques gouttes du réactif de KOVACS.

Lecture

La présence d'indole se traduit par l'apparition d'un anneau rouge en surface.

Chapitre III: Matériel et Méthodes

✓ Test au rouge de méthyle (RM)

C'est un test qualitatif qui permet de distinguer les entérobactéries fortes productrices d'acides mixtes (RM+) des bactéries faiblement productrices d'acides (RM-).

Technique

Le milieu utilisé est celui de Clark et lubs. Après ensemencement et incubation à 37°C pendant 24h on ajoute 2 à 3 gouttes du réactif rouge de méthyl.

Lecture

Un résultat rouge (RM+) indique une réaction positive, tandis qu'une couleur jaune (RM-) signale une réaction négative.

✓ Réaction de Voges-Proskauer (VP)

Elle permet de mettre en évidence la production d'acétoine (acétyl méthyle carbinol) à partir du glucose. Cette voie fermentative définit le groupe des KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*).

Technique

On réalise une suspension bactérienne en bouillon Clark et Lubs et on incube à 37°C. Après 24h on ajoute VP1 et VP2 et on laisse agir pendant 10 à 15minutes.

Lecture

En milieu alcalin, l'acétoine se transforme en butandione qui réagit avec l' α -naphtol et donne une coloration rouge.

L'apparition d'une couleur rouge indique une réaction VP positive (VP+), tandis que l'absence de changement de couleur correspond à une réaction VP négative (VP-).

✓ Utilisation du Citrate de Simmons

Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Le citrate est hydrolysé en acide pyruvique et CO₂ qui réagit avec des composants du milieu pour produire un composé alcalin faisant passer l'indicateur de pH (bleu de bromothymol) du vert au bleu.

Technique

La pente du milieu citrate de Simmons est ensemencée par une strie longitudinale.

Incuber à 37°C pendant 24 à 72 h (3 à 5 jours).

Chapitre III: Matériel et Méthodes

Lecture

L'utilisation du citrate se traduit par un développement bactérien accompagné d'un virage de la couleur du milieu en bleu vert.

- **Fermentation des sucres TSI**

Le milieu de TSI (Triple Sugar Iron) est un milieu complexe très utilisé dans l'identification des entérobactéries. Elle permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques. C'est un milieu coulé en pente et en culot permet de mettre en évidence plusieurs enzymes capables de dégrader le glucose, lactose et le saccharose ainsi que la production de gaz et de sulfure d'hydrogène (H₂S).

Technique

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale dans le culot puis par des stries dans la pente puis incuber à 37° C pendant 24h.

Lecture

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire.

- ❖ **Fermentation du glucose** : culot vire au jaune ;
- ❖ **Production de gaz** : décollement de la gélose du bas par la présence de gaz ;
- ❖ **Fermentation du lactose et/ou du saccharose** : pente vire au jaune ;
- ❖ **Production de sulfure d'hydrogène** : Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

- **Test ONPG**

Il consiste à rechercher la présence de la β -galactosidase (enzyme permet la dégradation du lactose en galactose et glucose).

On utilise comme substrat un analogue structural du lactose : Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside (ONPG) qui présente l'avantage d'être hydrolysé en un produit coloré (Ortho-Nitro-Phénol : ONP).

Technique

Mettre un disque d'ONPG dans une suspension bactérienne dense et incuber à 37°C pendant 30 minutes.

Chapitre III: Matériel et Méthodes

Lecture

Si la bactérie possède β -galactosidase on obtient du galactose et de l'Ortho-Nitro-Phénol de couleur jaune.

- **Fermentation du mannitol (Mannitol Mobilité)**

Gélose mannitol-mobilité (ou milieu gélosé à 0,4% d'agar) est une gélose molle ensemencée par piqûre centrale. Contient du mannitol, du rouge de phénol et du nitrate de potassium. Elle permet de rechercher aussi bien la fermentation du mannitol que la mobilité bactérienne.

Technique

Le milieu est ensemencé par pique centrale puis incuber à 37°C pendant 18h.

Lecture

Les bactéries immobiles ne poussent qu'au niveau de la piqûre centrale alors que les germes mobiles diffusent dans la gélose.

Le virage de la couleur au jaune indique la fermentation du mannitol et cela par acidification du milieu.

- **Recherche des enzymes métabolisme des protéines (Recherche de LDC, ODC et ADH)**

La recherche des trois enzymes : **LDC** (lysine décarboxylase), **ODC** (ornithine décarboxylase) et **ADH** (arginine dihydrolase) est d'une grande importance pour l'identification des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*.

Les enzymes ADH, LDC et ODC catalysent respectivement la **décarboxylation** de l'arginine, de la lysine et de l'ornithine présent dans le milieu. Cette dégradation aboutit à la formation de produits basiques ; l'alcalinisation du milieu est révélée par un virage de l'indicateur de pH (le pourpre de bromocrésol) à sa teinte basique (violette).

On opère en milieu **anaérobie** et contenant une **faible concentration de glucose**. L'acidification (due à l'utilisation du glucose) et l'anaérobiose sont des conditions favorables à la synthèse des décarboxylases.

- ❖ Dans un premier temps, la bactérie dégrade le glucose entraînant ainsi **une acidification** ;
- ❖ Dans un second temps, si elle possède l'enzyme correspondante, elle utilise l'arginine ou la lysine ou l'ornithine, entraînant une alcalinisation du milieu.

Chapitre III: Matériel et Méthodes

Technique

Le milieu est ensemencé avec une goutte de suspension bactérienne dense, puis agité afin d'assurer une répartition homogène. Si le tube n'est pas complètement rempli, on le recouvre de vaseline stérile pour créer des conditions anaérobies. L'incubation se fait ensuite à 37°C pendant 24 heures, avec le bouchon entièrement vissé.

Lecture

L'obtention d'une couleur jaune : Il y a eu acidification du milieu liée à l'utilisation du glucose mais il n'y a pas eu réalcalinisation. Le substrat (arginine ; lysine ou ornithine) n'a donc pas été dégradé. La bactérie est dite **ADH - ou LDC - ou ODC -**.

L'obtention d'une couleur violette : Il y a eu acidification du milieu liée à la fermentation du glucose puis il y a eu réalcalinisation du milieu liée à la dégradation du substrat (arginine ; lysine ou ornithine) par la bactérie. La bactérie est dite **ADH + ou LDC + ou ODC +**.

✓ Recherche de l'uréase

La recherche de l'uréase s'effectue par culture sur milieu Ferguson (milieu Urée-Indole) qui contient, en plus du tryptophane, de l'urée et un indicateur de pH : le rouge de phénol.

Il permet la mise en évidence en plus de l'uréase, de la tryptophane désaminase et de la production d'indole (ce milieu contribue à la mise en évidence des caractères d'identification des Entérobactéries).



Les ions CO_3^{2-} vont entraîner une forte alcalinisation du milieu qui sera révélée par un virage de l'indicateur de pH à sa teinte basique (rouge) (**Singleton., 2005**).

3.2 Antibiogramme

3.2.1 Etude de la sensibilité aux antibiotiques (profil de résistance)

L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est réalisée selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé de Mueller Hinton (MH) selon les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CASF.M., 2024**).

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine.

➤ Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure et jeune (18-24h) sur milieu gélosé non sélectif ;

Chapitre III: Matériel et Méthodes

- Prélever des colonies isolées en milieu gélosé avec une anse stérile ou un écouvillon en coton. Si possible, prélever plusieurs colonies afin d'éviter de sélectionner un variant atypique. Suspendre les colonies en milieu salé et mélanger pour obtenir une suspension homogène.
- Comparer à l'œil nu la turbidité de la suspension bactérienne à celle d'un étalon 0,5 de la gamme McFarland. Dans ce cas, agiter vigoureusement l'étalon de turbidité sur un vortex avant usage. Pour faciliter la comparaison de la suspension bactérienne avec l'étalon, se placer face à un fond blanc avec des lignes noires. (CASFM., 2024).

➤ **Inoculation des géloses**

- L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation ;
- Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Il est important de rejeter l'excès de liquide pour éviter une sur-inoculation des géloses, en particulier pour les bactéries à Gram négatif ;
- Ecouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions. L'inoculum doit être réparti de façon homogène sur toute la surface de la gélose en prenant soin de ne pas laisser d'espace entre les stries.

➤ **Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique**

- Déposer les disques fermement à la surface de la gélose inoculée et sèche. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés, car la diffusion des antibiotiques est très rapide.
- Le nombre de disques déposés par boîte de Pétri est limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques.

➤ **Incubation des géloses**

- Les incuber idéalement dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 60 min. « Si elles sont laissées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies ».
- Incuber les géloses.

➤ **Lecture**

- La bordure de la zone d'inhibition doit être lue à l'œil nu et au niveau de la complète inhibition de la culture.

Chapitre III: Matériel et Méthodes

- Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle, un pied à coulisse ou un système de lecture automatisé.
- Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les diamètres critiques. (CASFM., 2024).

Tableau N°3 : Listes antibiotiques testés pour les entérobactéries selon les recommandations du Réseau Algérien de la Surveillance de la Resistance des Bactéries aux Antibiotiques (Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale, 2011).

Famille	Antibiotiques à tester
Pénicillines	Amoxicilline (2µg) Amoxicilline + Acide clavulanique (20 µ+ 10µ) Ticarcilline (75µg)
Céphalosporines	Céfotaxime(5µg) Céf épime (30µg) Céfoxidine (30µg) Céfazoline(30µg)
Monobactames	Aztréonam (30µg)
Carbapénèmes	Imipénème. (10µg)
Phosphoniques	Fosfomycine (200µg)
Aminosides	Gentamicine (10µg) Kanamycine (30µg) Tobramycine. (10µg)
Quinolones/Fluoroquinolones	Acide nalidixique (30µg) Pefloxacine.(5µg)
Sulfamides	Triméthoprime+Sulfaméthoxazole 1.25(µg/23.75µg)
Polymyxines	Colistine (50µg)
Phénicolés	Chloramphénicol (30µg)

Chapitre III: Matériel et Méthodes

Tableau N°4 : Listes antibiotiques testés pour *S. aureus* selon les recommandations du Réseau Algérien de la Surveillance de la Resistance des Bactéries aux Antibiotiques (Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques a l'échelle nationale, 2011).

Famille	Antibiotiques à tester
Pénicillines	Pénicilline (10UI) Oxacilline (1µg)
Céphalosporines	Céfazoline (30µg) Céfoxitine(30µg) Céfotaxime (5µg)
Aminosides	Gentamicine (10µg) Tobramycine (10µg) Kanamycine (30µg)
Phosphoniques	Fosfomycine (200 µg)
Macrolides/ Lincosamides	Érythromycine (15µg) Lincomycine(2µg)
Tétracyclines	Tétracycline (30µg)
Sulfamides	Sulfaméthoxazole + Triméthoprime(1.25µg/23.74µg)
Rifamycines	Rifampicine (5µg)
Glycopeptides	Vancomycine (5µg)
Acides fusidiques	Acide fusidique (10µg)
Fluoroquinolones	Péfloxacine (5µg)

3.2.2 Détection des souches multirésistantes

➤ SARM

La mise en évidence de la résistance des staphylocoques à la méticilline (oxacilline) peut s'avérer difficile avec les tests utilisant uniquement l'oxacilline. Pour améliorer la détection, un test avec un disque de céfoxitine (30 µg) est utilisé en complément du disque d'oxacilline, sur un antibiogramme standard par diffusion en milieu Mueller-Hinton, incubé pendant 18 heures à 37 °C.

Selon les recommandations du CASFM (2017), une souche est considérée comme résistante à la méticilline si le diamètre d'inhibition est inférieur à 22 mm pour la céfoxitine et inférieur à 20 mm pour l'oxacilline. (CASFM., 2017).

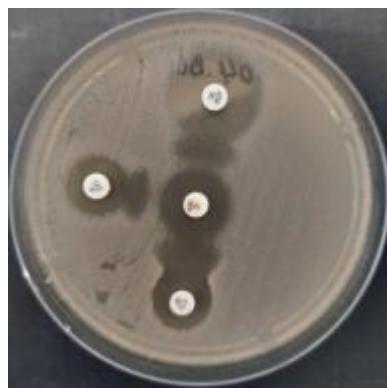
Chapitre III: Matériel et Méthodes

➤ Détection des BLSE

Les tests de recherche de BLSE que nous avons utilisés sont : le test de synergie et des tests complémentaires tels que le test du double disque

- **Test de synergie (méthode qualitative)**

Ce test permet de détecter la production de BLSE en observant une synergie entre une céphalosporine de 3e génération (céfotaxime, ceftazidime ou céfèpime) et l'acide clavulanique. Sur l'antibiogramme, les disques sont placés à 30 mm l'un de l'autre. La synergie se manifeste par une déformation en « bouchon de champagne » de la zone d'inhibition, indiquant la présence d'une BLSE. Pour augmenter la sensibilité, la distance entre les disques peut être réduite (**Lamaison., 2023**).



Photographie N°2 : Images en "bouchon de champagne" révélant la présence d'une EBLSE par la synergie entre un disque de céfotaxime (CTX), de ceftazidime (CAZ) et Aztréonam (ATM) avec l'acide clavulanique présent dans le disque AMC.

- **Test de confirmation (test du double disque)**

Le test du double disque permet de confirmer la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries. Il consiste à comparer les diamètres d'inhibition d'un antibiotique de troisième génération (C3G) seul et après exposition préalable à l'acide clavulanique (AMC). Le test est positif si le diamètre d'inhibition augmente de 5 mm ou plus, indiquant la présence d'une BLSE (**Ouar., 2013**).

RESULTATS ET DISCUSSION

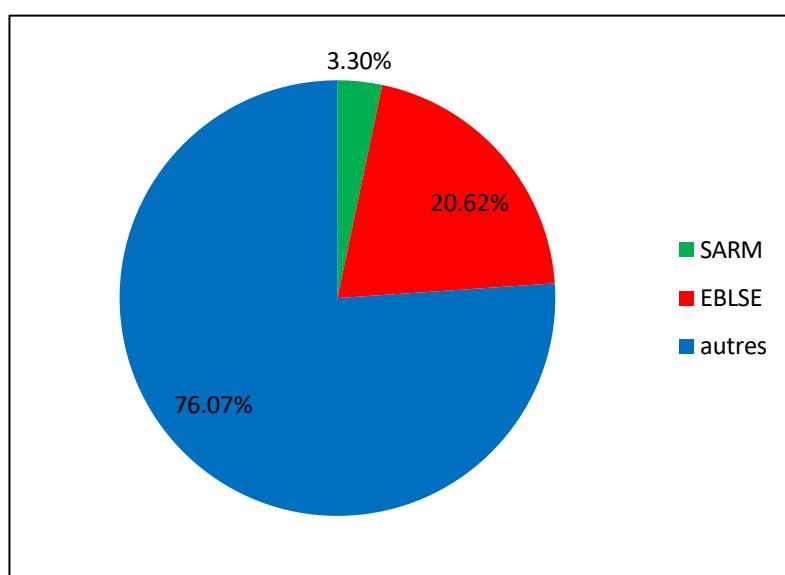
Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Etude rétrospective (épidémiologique)

1.1 Prévalence des SARM et EBLSE

Sur l'ensemble des germes isolés de janvier 2022 à avril 2025 rapporté par le laboratoire de bactériologie d'El Mansourah Constantine, le nombre des SARM et EBLSE retrouvé étaient de 123 souches parmi 514 isolats dont 106 souches sont des entérobactéries productrices EBLSE et 17 souches sont des SARM.

Notre étude a enregistré une prévalence globale d'isolement des EBLSE de 20.62% et de 3.30% pour les SARM (figure N°3).



Le taux des EBLSE enregistré est presque similaire à celui enregistré par le 23^{ème} rapport du Réseau Algérien sur la Résistance aux Antimicrobiens (AARN., 2023) (23.35%) de janvier à décembre 2022. Cependant on a enregistré un taux de SARM nettement inférieur à celui enregistré par le même rapport (40%).

Le taux des EBLSE et SARM enregistrés restent inférieurs à ceux rapportés par (Agoune., 2018) qui signale que la proportion des BMR en Algérie a connu au fil du temps une hausse progressive surtout milieu en hospitalier passant de 13,40% en 2006 à 26,63% en 2013 puis semble s'être stabilisée au tour de 21% en 2015 et 2016. Les EBLSE viennent en tête des BMR retrouvés (54,16%) en 2016. Le pourcentage des EBLSE semble plus élevé dans les services de pédiatrie (36,16%) et réanimation (37,5%). Selon le même auteur les SARM sont retrouvés dans les différents secteurs et sont quasi similaire (30 % à 34%).

Chapitre IV: Résultats et discussion

On ce qui concerne le taux des SARM observé au cours de notre étude dans la pédiatrie de Constantine est relativement faible comparé à celui enregistré par plusieurs auteurs ces dernières années (62,2%) (**Alioua., 2015**), (**Boukhatem et al., 2015**) (22,73%). Ce qui peut refléter une bonne maîtrise locale de la résistance bactérienne, possiblement liée à un usage raisonnable des antibiotiques et à l'efficacité des mesures de prévention.

Cependant, il convient de considérer que ce résultat très faible par rapport à la moyenne nationale algérienne pourrait également être influencé par des limitations dans les méthodes de détection (absence de disques d'antibiotiques). Dans ce cas il faut renforcer les capacités de diagnostic microbiologique notamment en standardisant les protocoles de détection.

A l'échelle mondiale le taux des SARM observé dans notre étude entre 2022 et 2025 (3,82 %) est inférieur à ceux rapportés en Suisse en 2017, où le taux national moyen était de 4,4 %, avec des variations régionales allant de 3,8 % (Nord-Est) à 8,1 % (Sud) (**Vuichard-Gysin., 2021**). Ces taux suisses étaient déjà plus bas que ceux observés dans des pays voisins comme l'Italie (33 %), la France (12,9 %), l'Allemagne (9,1 %) ou l'Autriche (5,9 %), mais plus élevés que ceux des pays nordiques, tels que les Pays-Bas (1,2 %), la Norvège (1,2 %) ou le Danemark (2,0 %). Cette différence peut s'expliquer par une pression antibiotique différente, des mesures de prévention variables selon les pays, et une circulation plus ou moins contrôlée des souches multirésistantes. (**Vuichard-Gysin., 2021**).

En effet depuis leur première mise en évidence en 1983, les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) ont largement diffusé dans le monde avec des fréquences d'isolement variables même d'un service à l'autre au sein de la même institution hospitalière. Les EBLSE aujourd'hui sont des BMR majoritaires qui sont à l'origine d'infections potentiellement sévères et de prescriptions d'antibiotiques à large spectre, qui menacent l'activité future des molécules de dernière ligne. (**Sbiti et al., 2017**).

1.2 Evolution en pourcentage de la fréquence des SARM (2022-2025)

Le pourcentage d'isolement des SARM selon les années est illustré dans la figure N°4. Les SARM enregistrés ont montré des fluctuations 3.82 % en 2022, puis légère diminution jusqu'à 2.84 % en 2024 et enfin augmentation du taux à 3.57 % en avril 2025.

Les taux de SARM restent relativement stables et faibles sur toute la période étudiée, oscillant autour de 3 %. Cette stabilité pourrait traduire un contrôle plus efficace de cette bactérie ou une faible circulation dans ce service.

Chapitre IV: Résultats et discussion

Nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par (Makhlof, Oukacha et Sadmi, 2024) qui notent un 9,3 % pour une étude réalisée au niveau du CHU Tizi Ouzou sur une période de trois années.

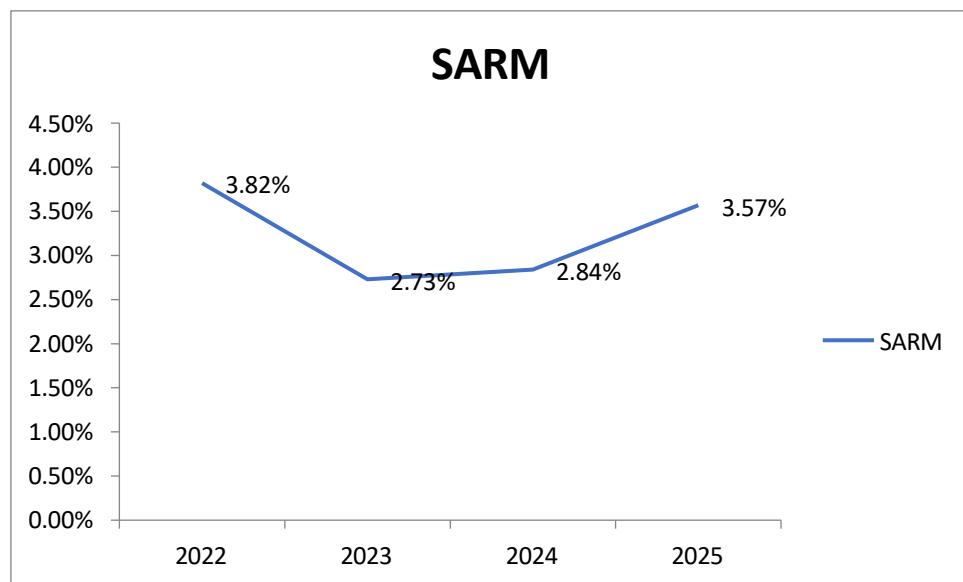


Figure N°4 : Evolution en pourcentage de la fréquence des SARM isolées sur la période 2022-2025

1.3 Evolution en pourcentage de la fréquence des EBLSE (2022-2025)

L’analyse de la courbe d’évolution des EBLSE sur la période 2022 - avril 2025 montre une évolution marquée des EBLSE en pédiatrie El Mansourah.

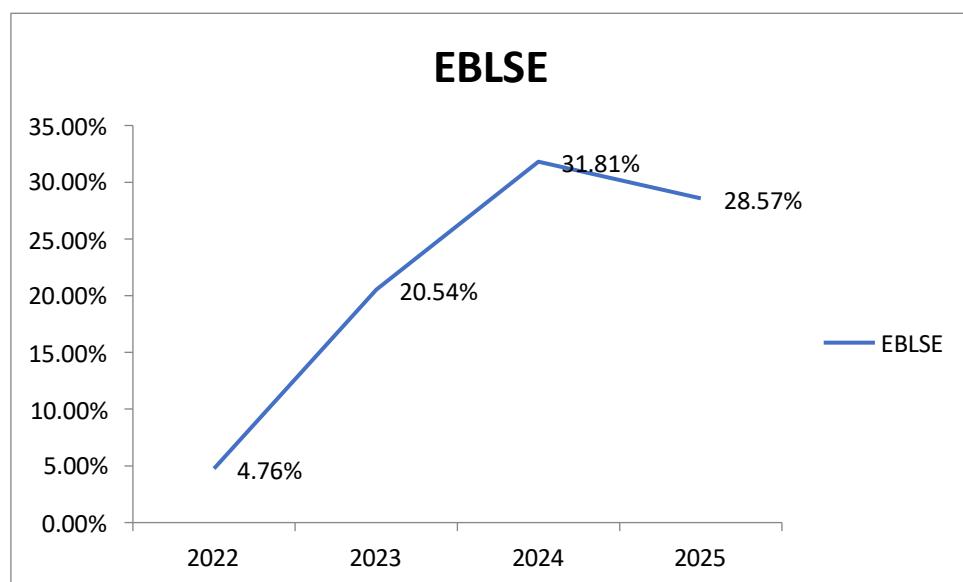


Figure N°5 : Evolution en pourcentage de la fréquence des EBLSE isolées sur la période 2022-2025

Chapitre IV: Résultats et discussion

Les EBLSE présentent une nette augmentation, passant de 4,76 % en 2022 à 31,81 % en 2024 avec un taux de 28,57 % (qui reste élevé) juste pour le premier trimestre de l'année 2025.

Cette augmentation progressive des EBLSE, pourrait s'expliquer par l'utilisation excessive ou inappropriée des antibiotiques chez les enfants favorisant ainsi la sélection de bactéries résistantes. Ceci suggère une propagation progressive des bactéries résistantes, possiblement liée à une pression antibiotique accrue ou à une amélioration du dépistage.

1.4 Evaluation des EBLSE par spécialité clinique

Le tableau N°5 met en évidence une forte prévalence des bactéries multi-résistantes EBLSE dans certains services hospitaliers, notamment en **réanimation (REA)** et en maladies contagieuses (**CTX**).

Le service de réanimation présente les taux les plus élevés sur l'ensemble de la période étudiée, avec une augmentation marquée, de 20 % en 2022 à 40 % en 2023, puis se stabilisant autour de 37 % en 2024 et 2025. Ce taux élevé s'explique par la nature critique des patients admis dans ce service : souvent immunodéprimés, porteurs de dispositifs invasifs, et exposés à de nombreux antibiotiques, ce qui favorise la sélection de bactéries résistantes.

Tableau N°5 : Évaluation des bactéries multi résistantes EBLSE par secteur de soins

Année Service	2022 %	2023 %	2024 %	2025 %
REA	20	40	36.92	37.5
CTX	60	13.33	10.76	6.25
NRS	/	13.33	10.76	
TA	/		3.07	
Urgence	20		3.07	
Chirurgie	/	6.66	6.15	
GE	0		1.53	
Déchocage	/		1.53	

/Manque de données

Le service des maladies contagieuses (CTX) affiche également un pic inquiétant en 2022 avec 60 %, suivi d'une baisse significative dans les années suivantes, suggérant une amélioration des pratiques ou une variation dans le nombre de prélèvements.

La majorité des souches isolées étaient d'origine hospitalière (REA, CTX, NRS, Urgence Chirurgie, GE et déchocage) avec un taux de 100 %, 73,32 %, 70,72 % et % 43,75 %

Chapitre IV: Résultats et discussion

respectivement pour les années 2022, 2023, 2024 et 2025. Ceci peut être expliqué par la place importante qu'occupent les EBLSE dans les infections nosocomiales. En revanche, un taux faible pour les malades non hospitalisés (TA) de 3,07% en 2024.

1.5 Évaluation des bactéries multi résistantes SARM par secteur de soins

Le tableau N°6 montre une évaluation de la prévalence des bactéries multi-résistantes SARM entre 2022 et Avril 2025 selon différents services. Les services les plus touchés sont la réanimation (REA) avec une forte hausse allant jusqu'à 100 % en 2025, indiquant une situation critique.

Tableau N°6 : Évaluation des bactéries multi résistantes SARM par secteur de soins

Service \ Année	2022 %	2023 %	2024 %	2025 %
REA	/	0	20	100
CTX	50	0	/	
NRS	25	0	40	
TA	12.5	50	/	
Urgence	/	0	20	
Chirurgie	/	0	/	
GE	/	50	/	

/Manque de données

Le service TA et GE atteint un taux de 50 % en 2023, tandis que le service nurserie (NRS) a atteint 40 % en 2024. Le service des maladies contagieuses (CTX) présente le taux le plus élevé des SARM 50 % en 2022. Toutefois, ce taux n'a pas calculé en 2023 et 2024 en raison du manque de données rendant l'évolution incertaine et limitant l'interprétation dans certains services. Cette situation souligne l'urgence de renforcer les mesures de prévention, de dépistage et de suivi, notamment dans les services les plus exposés.

Sur l'ensemble des souches de SARM isolées durant la période d'étude rétrospective la majorité des souches étaient d'origine hospitalière avec un taux de 75 %, 50 %, 80 % ,100 % respectivement pour les années 2022, 2023, 2024 et 2025. Ceci est en accord avec d'autres travaux réalisés en 2024 par (**Makhlouf, Oukacha et Sadmi., 2024**) où 90% des isolats de *S. aureus* provenaient des différents services hospitaliers. Ceci peut être expliqué par la place importante qu'occupe *S. aureus* dans les infections nosocomiales.

Chapitre IV: Résultats et discussion

Par contre on a noté pour l'année 2022 un taux significatif 50% pour souches externes (TA). Ce résultat est en accord avec celui enregistré par (**Boukhatem et al., 2015**) qui rapportent un taux de 61,53% des souches de provenance externe.

Quant à la répartition des deux BMR par spécialité clinique, elles prédominent largement en réanimation par rapport aux autres secteurs de soin. Cette spécialité clinique est en effet grande pourvoyeuse de BMR parmi les SARM et BLSE qui y trouvent de nombreuses circonstances favorisant leur émergence.

En effet, la dissémination des souches d'E-BLSE s'observe dans les milieux hospitaliers, notamment dans les services de réanimation ou de soins intensifs. La transmission d'un patient à l'autre peut se faire via les mains du personnel soignant, et le tube digestif des patients est un réservoir important. Le respect des règles d'asepsie (notamment l'hygiène des mains) est crucial pour lutter contre la transmission et la diffusion de ces souches (**Madhi et Cohen., 2016**).

(**Alioua., 2015**) signale qu'au cours de ces dernières années, les tendances internationales ont montré une nette croissance des rapports de bactériémies à SARM chez les enfants.

Aux États-Unis, une augmentation du taux des bactériémies à SARM de 10% en 1995 à 29% en 2001 dans 49 hôpitaux pédiatriques à travers le pays. En Afrique, le seul pays ayant publié des données sur ce sujet est l'Afrique de sud. La proportion des bactériémies à SARM chez les enfants dans ce pays a montré une hausse nette de 2% en 1974 à 18% en 1992, à 26% en 2011.

1.6 Répartition des EBLSE et SARM selon le site infectieux

Les EBLSE et SARM ont été retrouvés au niveau de tous les sites infectieux mais principalement dans les prélèvements de la bactériologie générale (cathéter, sonde urinaire, drain, pus, ponction lombaire, sonde gastrique, crachat, liquide péritonéale, liquide vésicale, ponction bronchique), hémoculture et ECBU.

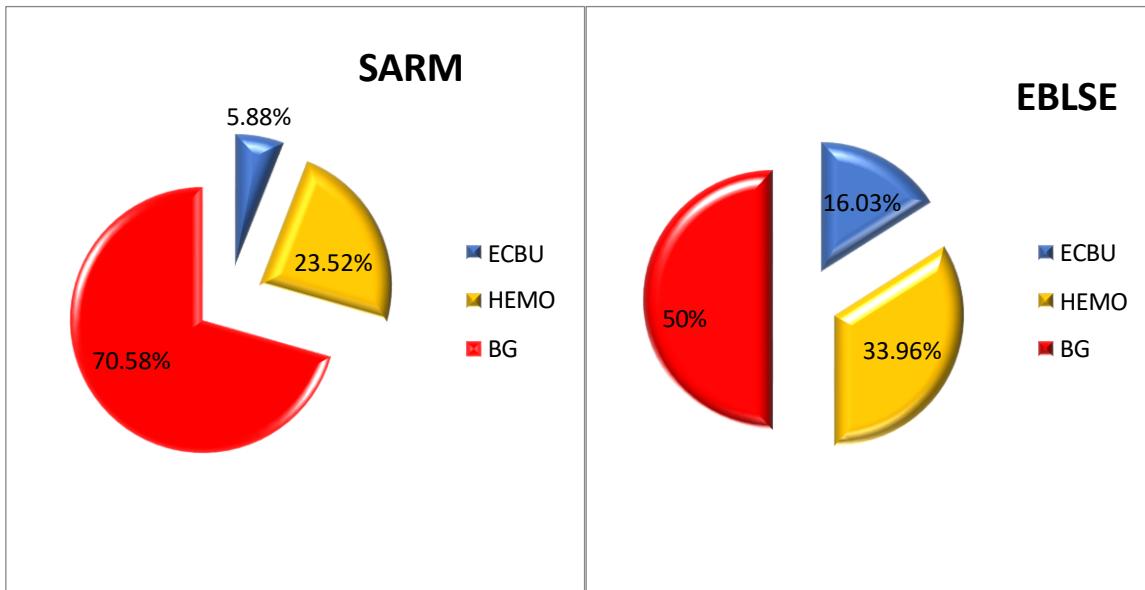


Figure N°6 : Répartition des EBLSE et SARM selon le site infectieux

En effet, au niveau du laboratoire de l'hôpital pédiatrique El Mansourah les prélèvements (pus, cathéter, sonde urinaire, ponction lombaire, sonde gastrique, crachat, liquide péritonéale, liquide vésical, ponction bronchique) ont été regroupés sous la catégorie prélèvements de la bactériologie générale sans distinction détaillée selon leur origine exacte.

Ceci a limité l'interprétation fine de la distribution des BMR étudiée selon les sites infectieux ou prélèvements.

Cependant plusieurs études montrent que la distribution des souches SARM d'EBLSE varie largement selon le type de prélèvement.

Les souches des EBLSE sont majoritairement isolées dans les prélèvements urinaires avec une prédominance *E.coli* dans les infections urinaires communautaires et *Klebsiella pneumoniae* dans les infections nosocomiales (**Lagha., 2015**) (**Souna D., 2011**).

Les EBLSE sont surtout responsables d'infections urinaires chez l'enfant mais peuvent aussi causer des infections intra abdominales, des septicémies et des infections maternofœtales (y compris les méningites du nouveau-né) (**Madhi et Cohen., 2016**).

Les EBLSE sont également retrouvées dans les prélèvements de pus, des hémocultures en cas de septicémie et les prélèvements respiratoires lors de pneumopathie (**Baba Ahmed kazi Tani., 2014**).

Cependant la fréquence des infections urinaires causées par *E. coli* représente un pourcentage élevé par rapport aux infections causées par d'autres germes.

(**Souna, 2011**) montre que *Escherichia coli* occupe la 1ère place parmi les entérobactéries pour les prélèvements de sondes urinaires, d'escarres et de plaies chirurgicales avec respectivement

Chapitre IV: Résultats et discussion

des taux de 61.1% (11/18), 54.5% (6/11) et 34.8% (23/66). Alors que les sondes trachéales sont beaucoup plus colonisées par les souches de ***Klebsiella pneumoniae*** avec un taux d'isolement de 50 % (8/16).

Quant aux SARM, ils sont majoritairement isolés à partir des prélèvements de pus, hémoculture, ainsi dans les infections respiratoires.

1.7 Répartition des EBLSE isolées selon la nature des espèces bactériennes

Au total, de 106 souches d'EBLSE isolées, elles sont réparties comme suit : l'espèce ***Klebsiella pneumoniae*** est prédominante durant les trois années 2023,2024 et 2025 avec une fréquence totale de 66.60%, suivi d'***E.coli*** avec une fréquence de 26.47 %.

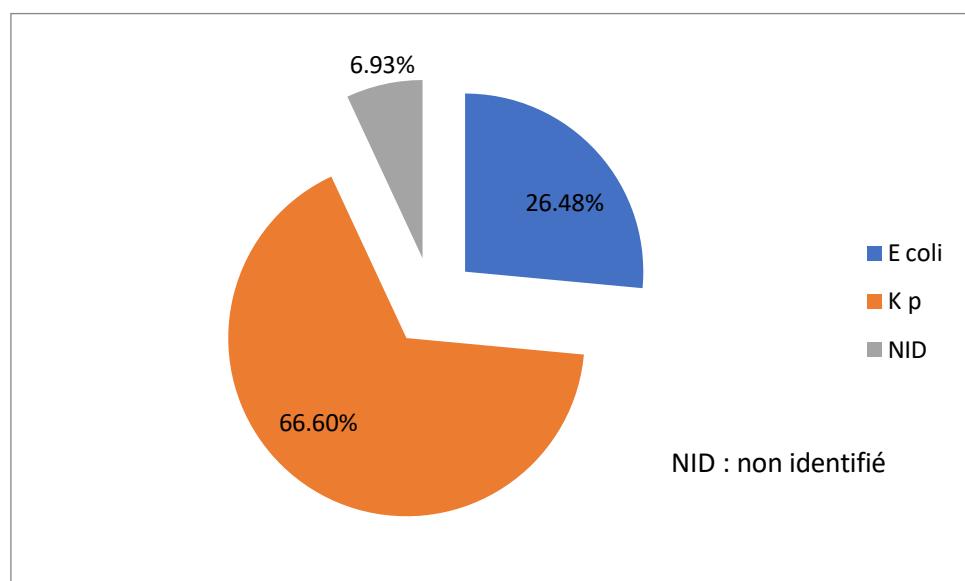


Figure N°7 : Répartition des EBLSE isolées selon la nature des espèces bactériennes
2022-2025

Ce résultat concorde avec celui enregistré par (**Benamer et al., 2018**) qui ont noté un taux de ***Klebsiella pneumoniae*** de 53,03 % contre 40,20 % pour ***E. coli***. De même le 23^{ème} rapport du Réseau Algérien sur la Résistance aux Antimicrobiens (AARN, 2023) a rapporté un taux plus élevé pour ***Klebsiella pneumoniae*** (47,15 %) par rapport à un taux 22,54 % pour ***E. coli***.

1.8 Distribution des souches EBLSE dans les ECBU

La figure N°8 montre la distribution des souches EBLSE dans les infections urinaires.

Chapitre IV: Résultats et discussion

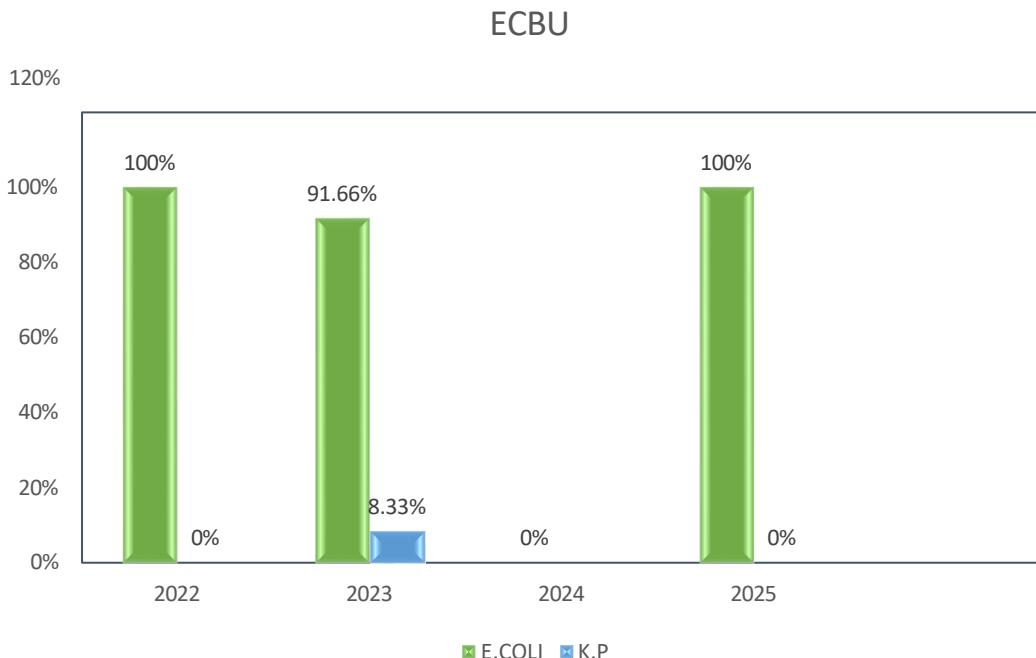


Figure N°8 : la distribution des souches EBLSE dans les infections urinaires.

E. coli est largement dominante dans les infections urinaires par rapport à *Klebsiella pneumoniae* durant toute la période étudiée, avec des taux respectifs de 100 %, 91.66 % et 100% pour l'année 2022, 2023, 2024 et les trois mois du 2025.

Nos résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs. En effet, le rapport national ARRN 2022, indique que *E. coli* est majoritaire dans les infections urinaires avec 52,72 %, contre 19,75 % pour *Klebsiella pneumoniae*.

(**Madhi et Cohen., 2016**) signalent que les infections urinaires à entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont de plus en plus fréquentes en pédiatrie, en milieu hospitalier comme en milieu communautaire. *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne la plus représentée actuellement dans ces infections.

Les BLSE sont essentiellement de type cefotaximases M (CTX-M), et leur mode de diffusion est pandémique. Un des facteurs de risque majeurs de colonisation ou d'infection par ces souches est l'antibiothérapie curative ou préventive, qui induit une pression de sélection sur le microbiote intestinal (notamment, les céphalosporines de troisième génération et les quinolones).

L'antibiothérapie de choix est l'amikacine en première intention en cas d'infection urinaire fébrile, puisque la majorité de ces souches reste sensible à cette molécule et que la monothérapie par aminoside a fait la preuve de son efficacité dans les pyélonéphrites.

1.6 Répartition des SARM et EBLSE selon le sexe

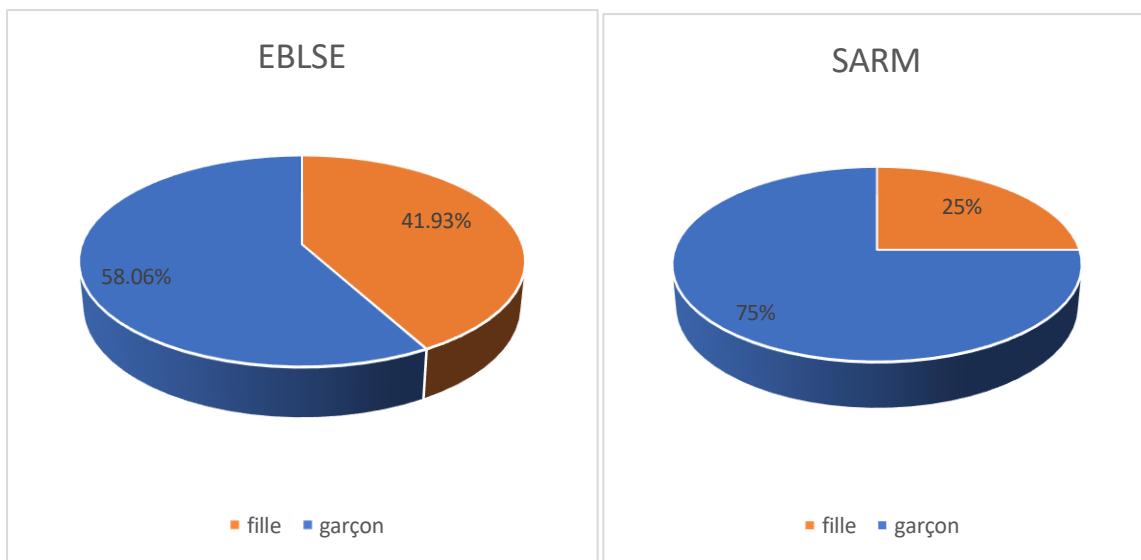


Figure N°11 : Répartition des SARM et EBLSE selon le sexe

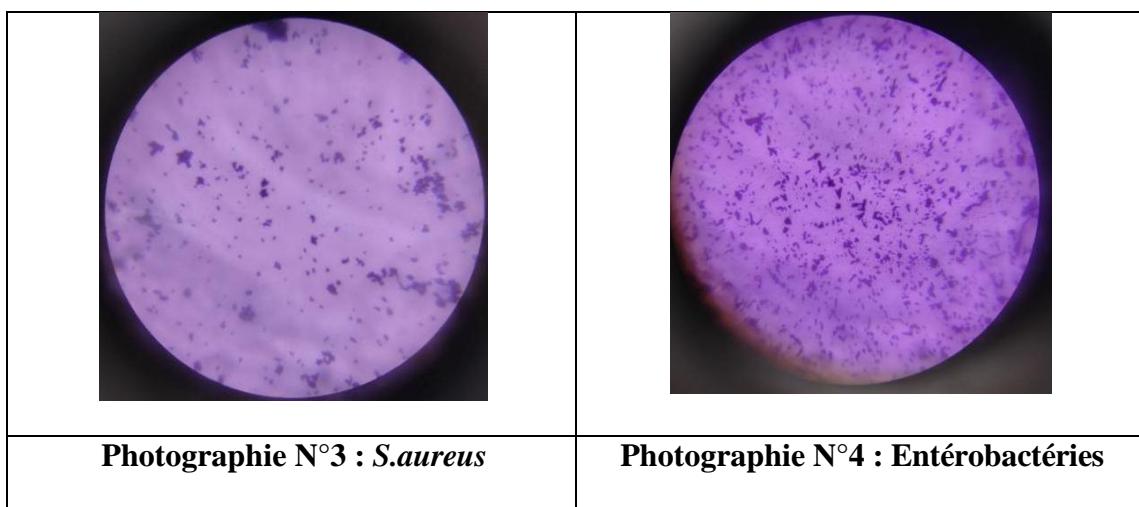
Pour les EBLSE nous avons noté une légère prédominance masculine avec un taux de 58,06 % contre un taux de 41,93 % pour les filles.

2. Etude prospective

2.1 Identification des souches étudiées

2.1.1 Examen microscopique

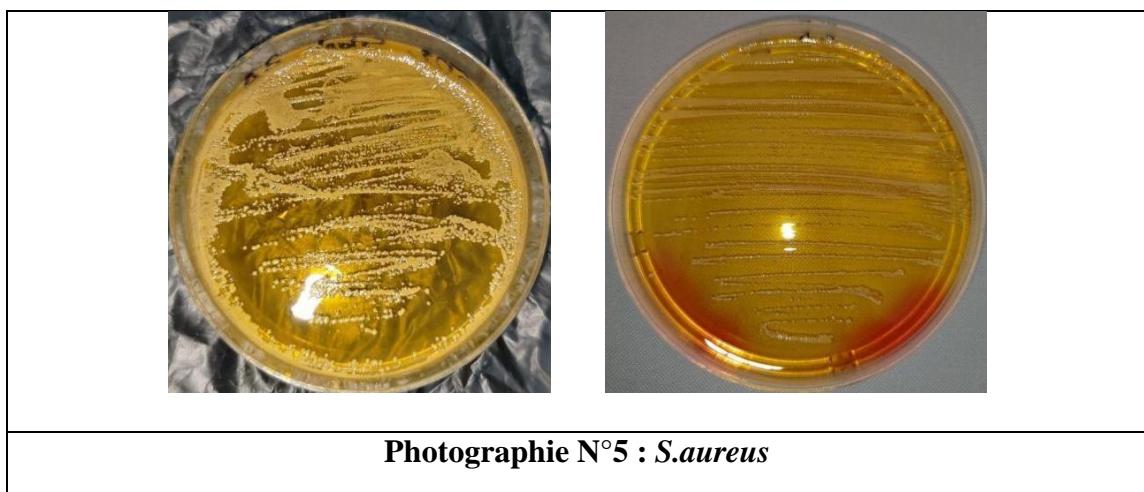
Au microscope, les souches de *Staphylococcus aureus* apparaissent comme des cocci Gram positif groupés en amas évoquant des grappes de raisin (Photographie N°3) et les souches d'entérobactéries se présentent sous forme de coccobacilles Gram négatif (Photographie N°4).



2.1.2 Examen macroscopique

➤ *S. aureus*

Sur gélose Chapman, les souches de *S. aureus* se caractérisent par des colonies, lisses, opaques et souvent pigmentées en jaune doré. La fermentation du mannitol par ces souches induit une acidification du milieu, traduite par un virage de couleur du rouge au jaune autour des colonies (Photographie N°5).



➤ **Entérobactéries**

L'examen macroscopique des colonies sur gélose Hektoen permet l'observation des colonies de couleur jaune à saumon avec acidification du milieu due à l'utilisation du lactose.

- *E.coli* des colonies jaunes à orangées, lisses et brillantes, en raison de la fermentation des sucres. (Photographie N° 6).
- *Klebsiella pneumoniae* présente des colonies plus grandes, muqueuses et brillantes, également jaunes à orangées (Photographie N° 7).

	
Photographie N°6 : <i>E.coli</i>	Photographie N°7 : <i>Klebseilla pneumoniae</i>

2.1.3 Identification biochimique

➤ *S. aureus*

- **Test catalase**

En présence H_2O_2 on observe un dégagement des bulles d'air ce qui confirme la décomposition de l'eau oxygénée en eau et en oxygène par les souches *Staphylococcus aureus* (catalase +).

- **Test coagulase**

Une coagulation du plasma humain est observée par une prise en masse du liquide ce qui confirme la production de la coagulase par nos souches.

La présence de la catalase et la mise en évidence d'une coagulase libre confirme que nos souches Staphylocoques appartiennent à *S. aureus*.

Chapitre IV: Résultats et discussion

- Entérobactéries
- Galerie classique

Tableau N°7 : Résultats de la galerie classique chez les entérobactéries.

Nom du test	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Production d'indole	+	-
Rouge de méthyle (RM)	+	-
Voge-Proskauer (VP)	-	+
β-galactosidase (ONPG)	+	+
Utilisation du citrate (Simmons)	-	+
TSI (Triple Sugar Iron)	+	+
GAZ	+	+
Fermentation du mannitol	+	+
Mobilité	+	-
Lysine décarboxylase (LDC)	+	+
Ornithine décarboxylase (ODC)	+	-
(ADH)	-	+

2.2 Détection des SARM et EBLSE

2.2.1 Détection des SARM

Toutes les souches étudiées ont montré une résistance à la cefoxitine (CTX) et oxacilline (OXA), avec des diamètres des zones d'inhibition : CTX<22 et OXA<20.

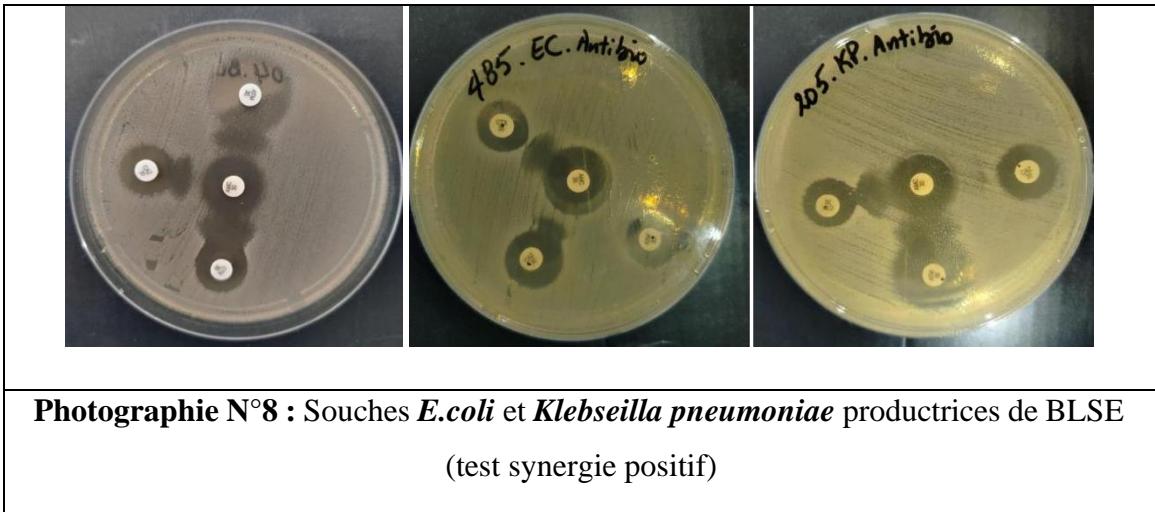
Selon les recommandations de la (ARRN, 2022) les souches étudiées sont des SARM.

2.2.2 Détection BLSE

➤ Test de synergie

La lecture des résultats a révélé la présence d'une zone d'élargissement autours des disques en « bouchon de champagne » ou en « entonnoir » entre les disques utilisés d'AMC et les C3G ou un monobactame (aztréonam) chez 6 souches d'entérobactéries indiquant clairement la production de BLSE par ces souches (Photographie N° 8).

Chapitre IV: Résultats et discussion



➤ Test de confirmation double disque

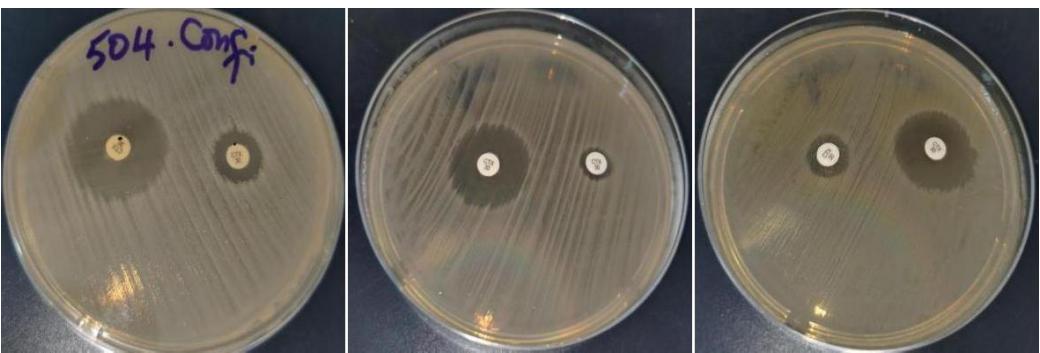
Il est important, de confirmer la présence des BLSE chez les souches présentant une synergie entre C3G et AMC. C'est ainsi qu'elles ont été testées par le test du double disque.

L'augmentation du diamètre autour du disque du cefotaxime (CTX) précédé par la diffusion de l'AMC est supérieure ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque du CTX (tableau N° 8).

Tableau N°8 : Résultats de test du double disque.

Souche	CTX (cm)	CTX+AMC (cm)
191	2.6	3.1
199	0.8	2.2
485	1.1	2.4
504	1.3	1.5
536	0.9	2.3

L'affirmation de la détection des bêta-lactamases à spectre étendu a été constatée chez toutes les souches étudiées (tableau N° 6) (photographie N° 9).



Photographie N°9 : Souches *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE (test de double disque positif)

2.3 Etude de la résistance (profil de résistance)

2.3.1 Entérobactéries BLSE

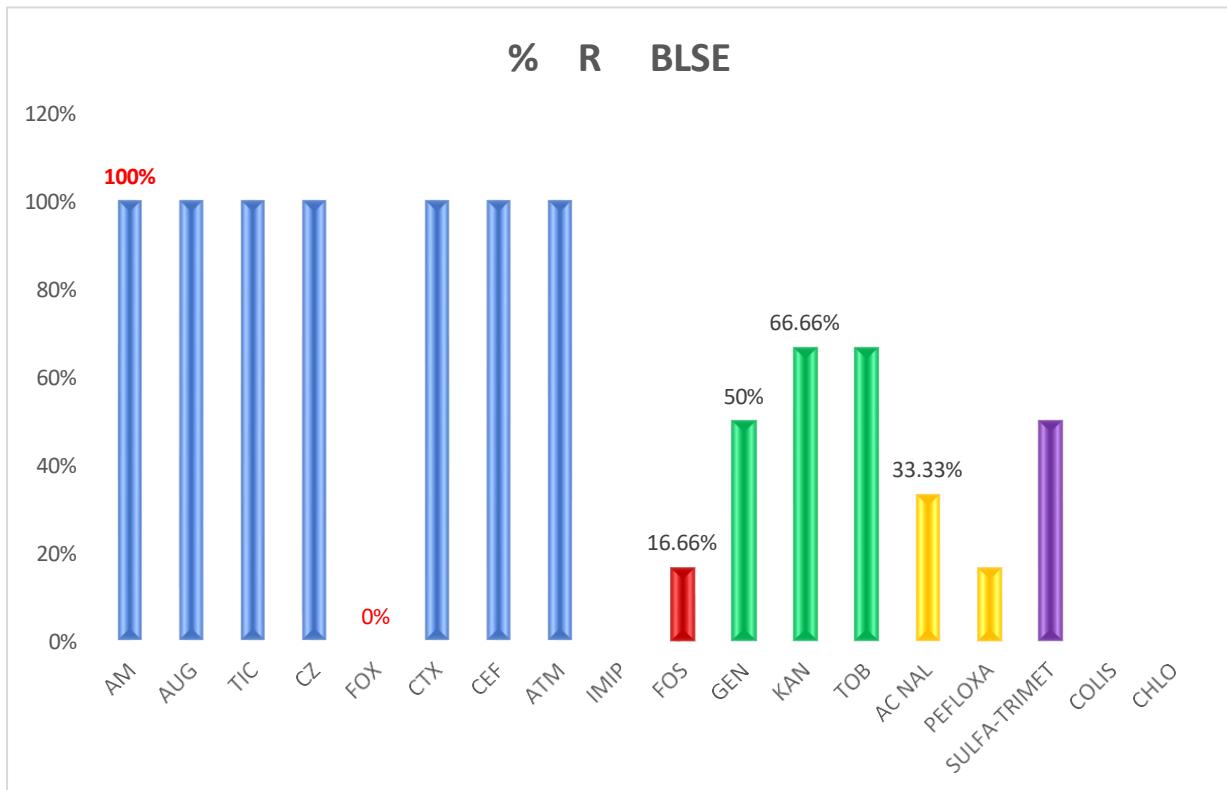


Figure N°9 : Profil de résistance des souches BLSE

Les souches d'entérobactéries ont été testées vis-à-vis de 18 antibiotiques appartenant à 7 familles différentes dont 9 β -lactamines, trois aminosides, deux quinolones, la fosfomycine, le triméthoprime/sulfaméthoxazole, la colistine et le chloramphénicol.

Chapitre IV: Résultats et discussion

L'histogramme (**figure N°9**) illustre le profil de résistance des souches EBLSE aux différentes familles d'antibiotiques.

➤ Sensibilité aux β -lactamines

Les résultats de l'étude de la sensibilité des 8 isolats d'entérobactéries productrices de BLSE aux **18** différents antibiotiques utilisés montrent que toutes les souches sont 100 % résistantes à l'amoxicilline (AX), amoxicilline + acide clavulanique (AUG), ticarcilline (TIC), céfazoline (CZ), cefotaxime (CTX), céfèpime (CEF), aztréonam (ATM) (Figure N°). Cette multirésistance réduit considérablement les options thérapeutiques classiques.

Ainsi, les souches étaient résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (cefotaxime et céfèpime) et à l'aztréonam.

En ce qui concerne la résistance aux β -lactamines associés à l'acide clavulanique, on a noté une résistance totale à amoxicilline+ acide clavulanique (AUG).

En revanche les souches restent à 100% sensibles aux cefoxitine (FOX) et aux **carbapénèmes** (l'imipénème).

La cefoxitine (FOX), une céphamycine qui se distingue par sa résistance à de nombreuses β -lactamases dont les BLSE, ce qui justifie son utilisation pour leur détection en microbiologie clinique. Toutefois, elle demeure sensible aux β -lactamases de type AmpC, fréquemment rencontrées chez certaines entérobactéries (**Jacoby, 2009**).

L'imipénème reste l'antibiotique de choix avec la sensibilité de toutes les souches.

Les carbapénèmes ont montré dans de nombreuses études de surveillance la plus grande activité, avec plus de 99,9 % de souches sensibles. (**Wolff et al., 2009**)

Selon (**Vora et al., 2009**), les entérobactéries développent une résistance aux β -lactamines par plusieurs mécanismes. Cela peut inclure une réduction de la perméabilité membranaire, empêchant la pénétration de l'antibiotique, ou la modification des cibles bactériennes mais le mécanisme le plus fréquent repose sur la production d'enzymes appelées β -lactamases, qui inactivent les β -lactamines en les hydrolysant.

➤ Sensibilité aux aminosides

Des résistances associées aux aminosides sont retrouvées chez toutes les souches EBLSE testées, ce qui présente un fort risque d'échec thérapeutique.

On a noté une résistance assez marquée de 66.66% pour la tobramycine (TOB) et la kanamycine (KAN) et 50% pour la gentamicine (GAN).

➤ Sensibilité aux quinolones

Chapitre IV: Résultats et discussion

La résistance de souches EBLSE aux β -lactamines est associée à une résistance aux quinolones et fluoroquinolones.

La résistance des EBLSE aux quinolones et fluoroquinolones est de 33.33% pour l'acide nalidixique (AC NAL), 16.66% pour pefloxacine (PEFLOXA).

➤ Sensibilité aux autres antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux autres familles d'antibiotiques a révélé une résistance assez importante à l'association sulfaméthoxazole + triméthoprime (SULFA-TRIMET) , avec un taux de 50%.

La colistine (COLIS) et le chloramphénicol (CHLO) se sont révélés être les plus actifs sur toutes les souches testées, avec un taux de sensibilité 100%.

Selon (El Mrimar, 2021), l'émergence de bactéries multirésistantes telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniae*, combinée à l'absence de nouveaux antibiotiques efficaces contre ces pathogènes, a entraîné un regain d'intérêt pour l'utilisation de la colistine dès les années 1990. Ainsi, en 2012, cet antibiotique a été réintroduit dans le traitement des infections humaines sévères causées par des bactéries résistantes à toutes les autres options thérapeutiques.

2.3.2 SARM

L'histogramme (figure N°10) illustre le caractère résistant des souches de *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) présentant une résistance croisée aux β -lactamines qui s'étend à d'autres familles d'antibiotiques réduisant ainsi le choix des molécules thérapeutiques.

Les souches **SARM** isolées ont été totalement résistantes (100%) à la pénicilline G, à l'oxacilline et à la céfoxitine.

La résistance aux β -lactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes : production d'enzymes inactivant l'antibiotique et modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP2a (Quincampoix et Mainardi, 2001).

Chapitre IV: Résultats et discussion

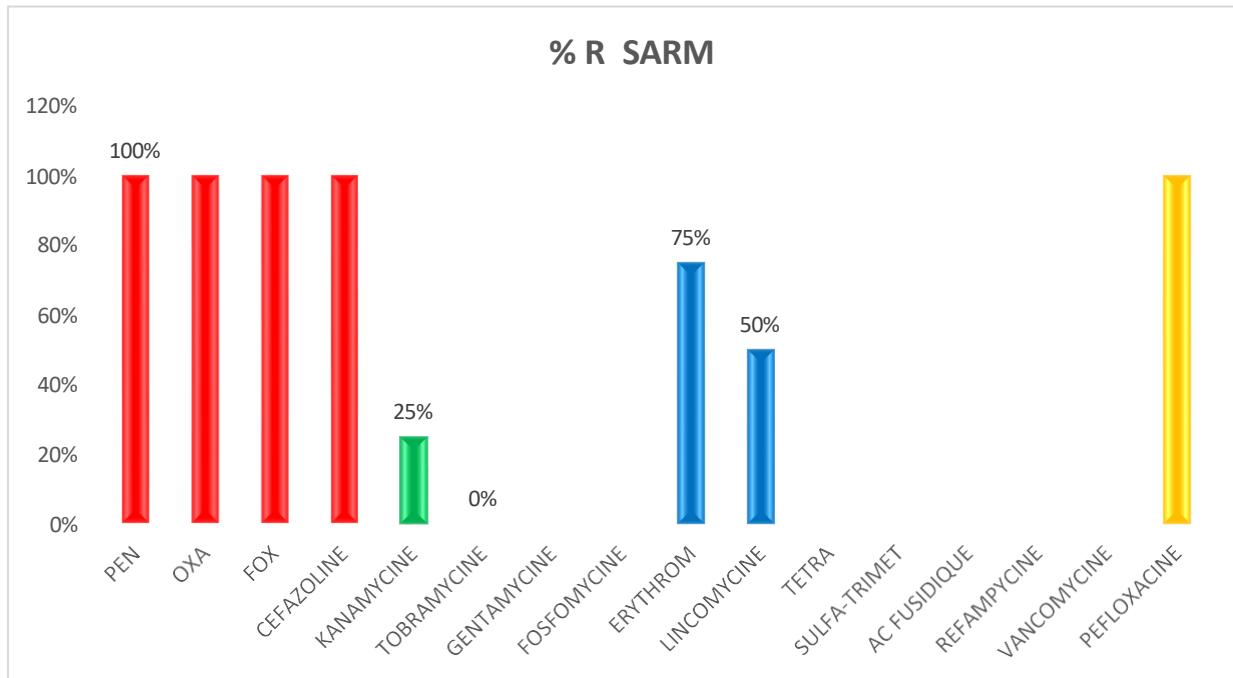


Figure N°10 : Profil de résistance des souches SARM

Concernant les aminosides, nos souches de SARM sont résistantes uniquement à la kanamycine (**25 %**). En revanche, la gentamicine et la tobramycine restent actives sur l'ensemble des souches testées.

Ce résultat est en accord avec celui de (**Djoudi et al., 2014**), dans une étude portant sur des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline chez des mères et des enfants hospitalisés à Alger, où aucune résistance à ces antibiotiques n'a été enregistrée. En revanche, il diffère de celui rapporté par l'ARRN (2022), qui a noté un taux de résistance plus élevé, atteignant **31,03%**.

Concernant les macrolides on a enregistré une résistance très importante à l'érythromycine (75 %) et à la clindamycine (50 %).

100 % de nos souches SARM sont résistantes à la péfloxacine. Ces résultats sont plus élevés que ceux rapportés par le 16^{ème} rapport national d'évaluation 2015 qui a noté une résistance de 21,34% et 17,92% respectivement pour ofloxacine et la ciprofloxacine.

La résistance des SARM aux fluoroquinolones est liée à des mutations chromosomiques entraînant une modification de la cible affectant l'ADN gyrase (mutation dans les gènes *gyrA* ou *gyrC*) ou une diminution de la perméabilité liée à une modification des porines. Chez les bactéries à Gram positif, la topoisomérase de classe IV constitue la cible primaire, et une mutation de cette cible est nécessaire pour entraîner l'apparition d'un premier niveau de résistance aux fluoroquinolones (**Mainardi et al., 1996**).

Chapitre IV: Résultats et discussion

Les fluoroquinolones présentent l'avantage d'une bonne activité bactéricide, d'une bonne diffusion tissulaire et d'une excellente biodisponibilité permettant leur utilisation *per os*. Malheureusement, leur forte capacité à sélectionner des mutants résistants a fait apparaître en quelques années des taux de résistance très élevés chez le staphylocoque (**Adoui M., 2019**). La vancomycine, l'acide fusidique et la rifampicine (les antistaph majeurs) garde une bonne activité sur les souches **SARM** dans notre étude.

Cette résistance des SARM associée à plusieurs familles d'aminosides macrolide et surtout fluoroquinolones pourrait être expliquée selon plusieurs auteurs par le fait que le gène codant la PLP2a, *mecA*, est porté par un élément chromosomique qui contient également d'autres gènes de résistance à d'autres antibiotiques (**Dumitrescu et al., 2010**).

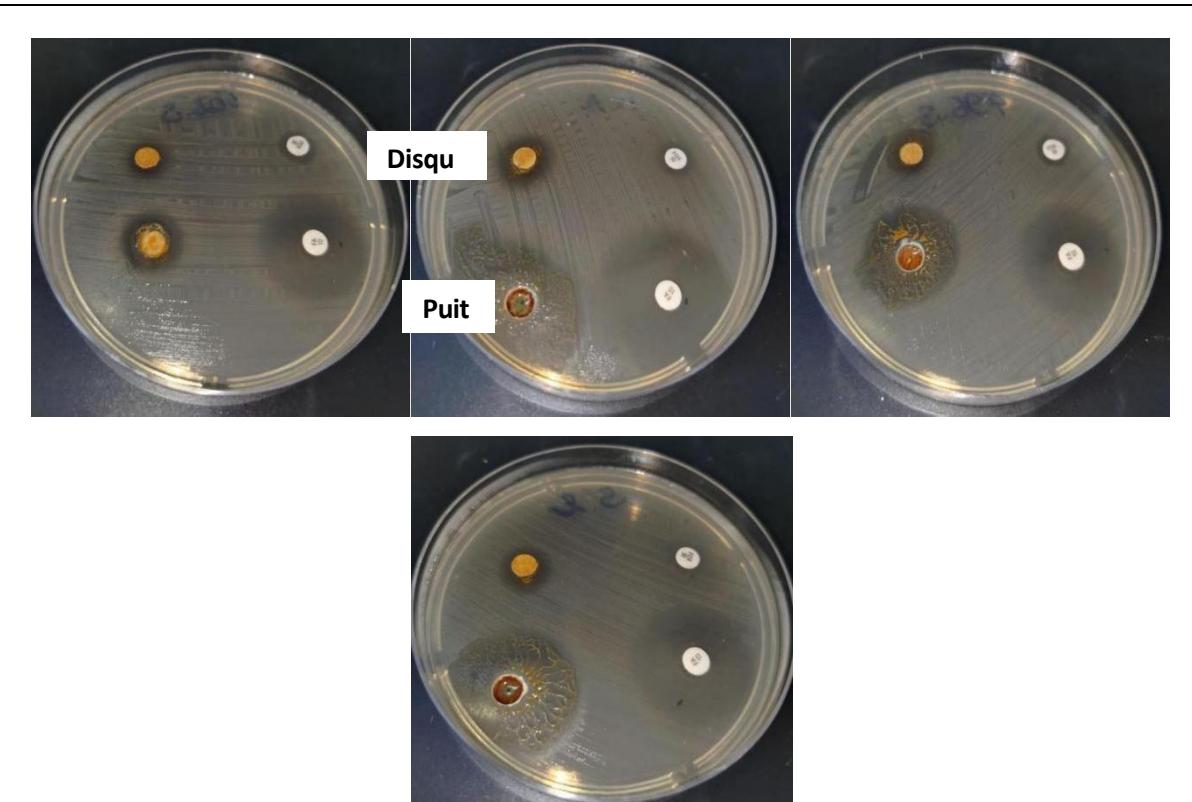
2.4 Etude de l'activité antibactérienne de la propolis

L'étude de l'activité antibactérienne de la propolis vis à vis de nos souches multirésistantes **SARM** et **EBLSE** a montré que EEP présentait une bonne activité antibactérienne vis à vis toutes les souches SARM (Photographie N°10), par contre aucune activité n'a été détectée avec les entérobactéries productrices de BLSE.

Ce résultat concorde celui de nombreuses études qui confirment l'action de la propolis contre les bactéries à Gram positives et afficherait une activité beaucoup plus faible, voire nulle contre les bactéries à Gram négatives (**Stepanovic et al., 2003 ; Boisard, 2014 ; Soltani, 2017**).

(**Boisard, 2014**) signale que parmi les bactéries dont la croissance est inhibée, on retrouve principalement des *Staphylococcus* (le plus généralement *aureus*) des *Streptococcus (mutans et sanguinis)* et des *Bacillus (subtilis)* pour les Gram (+).

Chapitre IV: Résultats et discussion



Photographie N°10 : L'activité antibactérienne de la propolis par les méthodes de diffusion en disque et en trous

Le tableau (N°9) illustre les zones d'inhibition obtenues avec les souches SARM par les deux techniques : trous et disques.

Selon les résultats enregistrés on a noté des zones d'inhibition avec la méthode de trous plus importants que celles des disques.

Chapitre IV: Résultats et discussion

Tableau N°9 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'EEP avec les SARM

Souche	Puit (cm)	Disque (cm)	Antibiotique (cm)
S1	4	1.6	Ac fusidique 3 Fox 0.8
S2	2.8	1	Ac fusidique 2.8 Fox R
S3	3.7	2.7	Ac fusidique 3.3 Fox R
496	2.5	1.5	Ac fusidique 2.5 Fox 0.8
502	1.3	1	Ac fusidique 2 Fox 1
507	3.4	1.3	Ac fusidique 2.9 Fox R

Ce résultat corrobore les travaux de plusieurs auteurs qui ont noté une activité antibactérienne plus importante avec la méthode des puits, car celle-ci permet une meilleure diffusion de l'EEP (**Adoui, 2019**).

Nos résultats montrent que l'EEP a un effet sur les souches de SARM, parfois plus marqué que celui des antibiotiques testés (cefoxitine et acide fusidique). Le même constat a été rapporté par plusieurs études, qui signalent que des souches résistantes aux antibiotiques étaient sensibles à la propolis. Il a également été montré que la propolis, lorsqu'elle est prise en association avec certains antibiotiques (comme l'amoxicilline, l'ampicilline, la gentamicine, le chloramphénicol, "etc."), augmente l'efficacité de ces derniers (**Boisard, 2014 ; Adoui, 2019**). Certains auteurs attribuent l'activité antimicrobienne de la propolis à sa composition hautement complexe et variable. Les données recueillies jusqu'à présent suggèrent que cette activité peut être liée à de multiples cibles, avec plusieurs constituants agissant en synergie (**Soltani, 2017**). La propolis affecte la membrane cytoplasmique, inhibe la motilité bactérienne et l'activité enzymatique, présente une activité bactériostatique contre différents genres bactériens et peut être bactéricide en concentrations élevées (**Soltani, 2017**).

Selon (**Jastrzebska-Stojko et al., 2013**), les propriétés bactéricides de la propolis peuvent s'expliquer par des différences structurelles spécifiques entre les espèces bactériennes, notamment au niveau de la membrane externe et de la paroi cellulaire. Cela expliquerait

Chapitre IV: Résultats et discussion

pourquoi la propolis présente une activité antibactérienne plus marquée contre les bactéries à Gram positif, comparée à une action plus limitée sur les bactéries à Gram négatif. Chez ces dernières, la présence de lipopolysaccharides (LPS) chargés négativement forme une barrière qui limite la pénétration des composés actifs de la propolis. De plus, ces bactéries produisent des enzymes hydrolytiques capables de dégrader ces composés actifs, réduisant ainsi l'efficacité de la propolis.

CONCLUSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

La résistance aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique. L'utilisation massive et répétée d'antibiotiques en santé humaine et animale, a augmenté la pression de sélection et a conduit à l'émergence de bactéries multirésistantes (BMR) rendant les traitements par les antibiotiques inefficaces.

Parmi toutes les BMR, les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) sont les plus préoccupants compte tenu de leur pouvoir pathogène, de leur diffusion au sein des hôpitaux et de leur potentiel de diffusion dans la communauté.

L'étude du profil épidémiologique de ces BMR au niveau de la pédiatrie El Mansourah de Constantine a révélé une prévalence des SARM de 3,30 % nettement inférieur à celle enregistré par AARN à l'échelle national et un taux des EBLSE de 20,62% avec un pic de 31,81 % en 2024.

La répartition des souches d'entérobactéries productrices de BLSE montre que les fréquences les plus élevées sont enregistrées chez *Klebsiella pneumoniae* avec 66,60% suivie d'*Escherichia coli* avec 26,47 %.

Les services les plus touchés par les deux BMR sont ceux de la réanimation et des maladies contagieuses (CTX).

La distribution des souches EBLSE dans les infections urinaires montrent que *E. coli* est largement dominante.

Les EBLSE étudiées sont totalement résistantes à tous les β -lactamines testés sauf la céfoxitine (céfamycine) et les carbapénèmes. Une importante résistance est enregistrée avec les quinolones tel que l'acide nalidixique 33 ,33% les aminosides (kanamycine et tobramycine 66,66%). En revanche, l'imipenème la colistine et le chloramphénicol conservent une bonne activité.

Le profil de résistance des SARM étudiées montre une résistance totale à tous les β -lactamines testés aux fluoroquinolones (pefloxacine). Une résistance élevée aux macrolides (érythromycine 75 %, lincomycine 50 %) et une résistance de 25 % à la kanamycine (aminosides). Cependant la vancomycine, l'acide fusidique et la rifampicine restent efficaces. L'extrait éthanolique de la propolis (EEP) étudié montre une bonne activité antibactérienne vis à vis des souches SARM mais aucune activité n'a été détectée contre les entérobactéries productrices EBLSE.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A l'issue de cette étude et face à l'augmentation continue des BMR plusieurs perspectives se dessinent pour limiter cette résistance aux antibiotiques :

- Formation continue des professionnels de santé sur la prescription raisonnée des antibiotiques basée sur les résultats de l'antibiogramme ;
- Interdiction de vente libre des antibiotiques très fréquente dans notre pays ;
- Application stricte des mesures d'hygiène hospitalière : désinfection, lavage des mains, isolement des patients porteurs de BMR pour prévenir les infections nosocomiales
- Programme de lutte contre les infections nosocomiales dans tous les hôpitaux ;
- La détection rapide des bactéries multirésistantes comme les SARM et BLSE est cruciale en microbiologie clinique pour traiter efficacement les infections nosocomiales. Les avancées diagnostiques permettent une identification précoce, favorisant un traitement adapté et limitant la propagation ;
- Utilisation des techniques biomoléculaires rapides et très sensibles en identifiant les gènes de résistance ;
- Développement de nouvelles molécules antibiotiques ;
- Recherche des thérapies alternatives naturelles a potentiel antibactérien comme la propolis ;

Il est indispensable de renforcer la surveillance, optimiser l'utilisation des antibiotiques et poursuivre la recherche pour protéger la santé publique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Aberkane ch.,2024. Contribution à l'étude de la prévalence des colibacilles (Escherichia coli) aviaires et de leurs influences sur les performances zootechniques. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat 3ème cycle en sciences agronomiques, université Mohamed Khider Biskra, p3.

Adoui M., 2019. Caractérisation des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) et évolution de leur sensibilité à la propolis. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en Sciences Biologiques. Université des Frères Mentouri Constantine p

Agoune N., 2018. Les BMR en Algérie : évolution de 2006 à 2016 et situation actuelle selon les données du réseau ARRN. Congrès de la Société Algérienne de Biologie Clinique (SABC) se 6 et 7 mai 2018 à l'hôtel El Aurassi à Alger...

Alioua M., 2015. Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méticilline. Thèse En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Microbiologie, Université Badji Mokhtar, Annaba, p17.

Avril J et al., 2000. Manuel de Bactériologie Clinique. 3e édition

B

Baba Ahmed Kazi Tani Z., 2014 .Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie News of antibiotic resistance among Gram-negative bacilli in Algeria Pathologie biologie Volume 62, Issue 3, June 2014, Pages 169-178

Benammar S., Bouziane F., Benmehidi M., Boukhalf S., 2018. Epidémiologie des résistances au CHU Batna (Algérie) en 2018 (2021). Le 30 ème congrès national de la société tunisienne de pathologie et de microbiologie clinique du 9 au 11 septembre 2021.

Benmerzoug et Boukerma,2020, Etude Bactériologique et Epidémiologique des Bactéries Multirésistantes au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régionale Universitaire de Constantine (HMRUC). Mémoire de master. Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière. Université des Frères Mentouri Constantine. P 49,50.

Références bibliographiques

Boisard S. 2014.Caractérisation chimique et valorisation biologique d'extraits de propolis. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université d'Angers sous le label de L'Université Nantes Angers Le Mans. P155-161.

Boukhatem M. N., Ferhat M. A., Hadj Mohamed R., Lalaoui N. (2015). Prevalence and antibiotic resistance of Staphylococci isolated from Kolea hospital (ALGERIA). J Fundam Appl Sci, 7(2): 260-270.

Bradford P., 2001. “Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat”. Clinical Microbiology Reviews, 14(4) :933-951.

Brahmia S., 2022. Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du service de chirurgie urologique au CHU d'Annaba. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en Biologie Moléculaire et Cellulaire, l'Université Badji Mokhtar d'Annaba p1.

C

Camille R.,2021. Identification des facteurs de mauvais pronostic des infections par entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu : étude rétrospective dans un centre hospitalier régional. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Aix Marseille Université. p24-25.

Chang S et al. ,2003. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med, 348(14), 1342–1347.

Courvalin P.,2006. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. Clin Infect Dis, 42(Suppl 1), S25–S34.

D

Debab M., 2020. Analyse pollinique et activités biologiques de la propolis de l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Specialité : Sciences de l'Environnement, Djillali liabes de sidi bel abbes p 09.

Références bibliographiques

Djoudi F., Benallaoua S., Bonurab C., Touatia A., Mammina C. (2014). *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez des mères et des enfants hospitalisés à Alger : prédominance du clone virulent européen. Médecine et maladies infectieuses. 44 : 232–237.

Deboscker S., 2019. Les enterocoques résistants aux glycopeptides : épidémiologie et modélisation de leur transmission hospitalière. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat université DE STRASBOURG, p 10-11.

Diagne R et al., 2018. Recherche de gènes BLSE de type TEM, SHV et OXA-1 sur des souches d'*E.coli* isolées aux laboratoires de Bactériologie de Fann, Sénégal. Revue Africaine et Malgache pour la recherche Scientifique /Science de la Santé, 1(1) :2424-7243.

Douhan H., 2021. Les infections à entérobactéries, épidémiologie et diagnostic bactériologique. Thèse pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, université Mohammed Rabat p 8-9.

E

El Mrimar N., 2021. Resistance à la colistine chez les bacilles à Gram négatif. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme national de spécialité en analyses biologiques médicales , Université Mohammed V de Rabat p11.

G

Gaël A., 2012. Recherche des souches de *Staphylococcus aureus* et *pseudointermedius* résistant à la méticilline dans les muqueuses anale et nasale de chiens consultés dans les cabinets vétérinaire de Dakar (Sénégal). Thèse de doctorat. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie, Cheikh Anta diop de Dakar. p 04.

J

Jacoby G, 2009. AmpC β -lactamases. Clinical Microbiology Reviews, 22(1), 161–182.

Jastrzebska-Stojko Z et al,2013. Biological activity of propolis honey balm in the treatment of experimentally-ovoked burn wounds, Molecules 18 (11) 14397-14413.

Références bibliographiques

K

Kalla N et al., 2023. Les facteurs de risque d'acquisition des infections à BMR : Etude analytique. La Tunisie medicale-2024 ; Vol 102 (03) : 146-150, p147.

Khennouchi N.,2016. Evaluation de l'antibiorésistance du genre *Enterobacter* aux antibiotiques. Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Microbiologie, université Badji Mokhtar – Annaba, p20-21.

L

Lagha N. 2015. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. [Thèse]. Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen (Algérie), p80.

Lamaison M., 2023. Evaluation d'un test rapide de détection d'entérobactéries productrices de BLSE. Apport de ce test dans l'antibiothérapie probabiliste des bactériémies à entérobactéries. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Bordeaux , p28-30.

Lemdani A., et al., 2023. Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master, Université Frères Mentouri, Constantine 1, p18.

M

Madhi F., Cohen R.,2016. Infections urinaires à entérobactéries BLSE en pédiatrie : épidémiologie, facteurs de risque et options thérapeutiques. Urinary tract infection due to extended-

spectrum betalactamase-producing Enterobacteriaceae in children: Epidemiology, risk factors and treatment options La Lettre de l'Infectiologue • Tome XXXI - n° 6 - novembre-décembre 2016 p234-237.

Maïmouna D.,2020. Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées des urines au service de bactériologie de l'INSP de 2016 à 2018. Thèse de doctorat. Faculté de pharmacie, Université de Bamako, p 30.

Références bibliographiques

Makhlouf C., Oukacha Y., Sadmi C., 2024. Epidémiologie et résistance aux antibiotiques du *Staphylococcus aureus* isolé au laboratoire de Microbiologie Tizi-Ouzou. Mémoire de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. P16-17.

McGuinness WA et al. (2017). Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Yale J Biol Med, 90(2), 269–281.

Mhaya A.,2019. Analyse de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et étude d'une potentielle voie alternative aux traitements antibiotiques. Thèse en cotutelle présentée pour obtenir le grade de docteur, l'université de Bordeaux, p29-32.

O

Oumar A., 2013. Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline au CHU du point G. Thèse de doctorat. La faculté de pharmacie, Université de Bamako, p17.

P

Pauline G., 2019. Pharmacocinétique et pharmacodynamiques des aminosides dans la mucoviscidose, étude pédiatrique au CHU de Bordeaux. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine, Université de Bordeaux, p57.

Preziosi L., 2024. Exploration des potentiels thérapeutiques des produits de l'abeille corse : la propolis, vers de nouvelles perspectives médicales. Thèse de doctorat, Aix Marseille université p 15.

Q

Quincampoix J et Mainardi J., 2001. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Réanimation.2001 ;10 :267-75.

R

Renaud p., 2019. Mécanismes de dissémination des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi en médecine intensive réanimation. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur, Université de bordeaux, p 27.

Références bibliographiques

Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance aux Antibiotiques (AARN). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques – 22^e rapport (année 2021). Alger : Institut Pasteur d'Algérie ; 2022.

Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance aux Antibiotiques (AARN). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques – 16^e rapport (année 2015). Alger : Institut Pasteur d'Algérie ; 2016.

S

Sbiti M, Lahmadi KH, louzi L., 2017. Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi. *Pan Afr Med J.* 2017; 28: 29.

Silici S., Kutluca S., 2005. "Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region". *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1): 69–73.

Sforcin J., 2016. "Biological properties and therapeutic applications of propolis". *Phytotherapy Research*, 30(6): 894–905.

Singleton P., 2005. Bactériologie : la médecine, la biologie et la biotechnologie. 6eme ed Dunod Paris, p 480-488.

Soltani E.,2017. Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles, cas de la propolis. Thèse présentée à : La faculté de technologie département de génie des procédés pour l'obtention du diplôme de doctorat en sciences, université Ferhat Abbas –setif-1p10-18.

Sonnet M.,2020. Enterobacterias against third and fourth generation cephalosporins and carbapenems : evolution, current situation, problematic. Travail de fin d'études présenté en vue de l'obtention du grade de Médecin Vétérinaire, à l'Université de Paris,p 24-26.

Souna D., 2011. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes. Mémoire de Magister en Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen p 5.

Sylvie C., 2009. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Le parrainage des antimicrobiens : vision 2010,2009 ;42(2) :11

Références bibliographiques

T

Touaitia R.,2016. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Microbiologie, université Badji Mokhtar – Annaba, p17.

V

Ventola C.,2015. "The Antibiotic Resistance Crisis". Pharmacy and Therapeutics, 40(4): 277–283.

Vora S et al., 2009. Que signifie « bétalactamases à spectre élargi » en pratique ? Revue Médicale Suisse 2009 ; 5 : 1991-4

W

Wertheim H.F.L., Melles D.C., Vos M.C., Van Leeuwen W., Van Belkum A., Verbrugh H.A., et al. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis. 5 (12): p751-62.

Wolff M et al., 2009. Les carbapénèmes Comparative review of carbapenems. Réanimation (2009) 18, S199-S208, p 200.

SITES

Bourgeois-Nicolaos N et Guillet-Caruba C., 2012. <https://www.em-consulte.com/article/697660/glycopeptides>

Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. Fiche technique. *Staphylococcus aureus*.

Courvalin P.,2005. Antimicrobial Drug Resistance: "Prediction Is Very Difficult, especially about the Future". <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3366764/#ref-list1>.

Fiche technique : *Staphylococcus aureus* 2021. Fiche technique _ Bactériologie 212 site Internet : www.ctcb.com

Références bibliographiques

Fiche technique : *Staphylococcus aureus* 2021. Fiche technique _ Bactériologie 212 site Internet : www.ctcb.com

<https://fmos.usttb.edu.ml>

https://fmos.usttb.edu.ml/cours/pluginfile.php/24218/mod_resource/content/0/STAPHYLOC%20AUREUS.pdf

<https://fr.scribd.com/document/608191200/Clinical-Microbiology-Procedures-Handboo-en-fr>.

<https://PMC4451395/>

<https://sante.lefigaro.fr/sante/traitement/macrolides/mecanisme-daction>

<https://www.cnpm.org.dz/index.php/alertes-side/263-quinolones-et-fluoroquinolones>

<https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/JNI/2005/CT/CT17-4-cavallo.pdf>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=1280>

<https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/escherichia-coli>

https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2024/06/CASFM2024_V1.0.pdf

https://www.sfpediatrie.com/sites/www.sfpediatrie.com/files/medias/documents/aminosides_afssaps.pdf

Iredell J et al., 2016.

https://www.researchgate.net/publication/293645561_Antibiotic_resistance_in_Enteobacteria_ceae_Mechanisms_and_clinical_implications

Merens A et Servonnet A , 2010 .https://www.researchgate.net/publication/251706917_Mecanismes_et_epidemiologie_de_la_resistance_aux_fluoroquinolones_en_2010

Ouar M., 2013. [Antibiogramme BLSE.](https://pasteur.dz/aarn/images/pdf/activites/BLSE%20Ouar.pdf)
<https://pasteur.dz/aarn/images/pdf/activites/BLSE%20Ouar.pdf>

Staphylococcus aureus et SARM 2016. Chapitre 7 maladies infectieuses

Références bibliographiques

Staphylococcus aureus faculté de médecine et d'Odonto-Stomato

Staphylococcus aureus <https://publications.msss.gouv.qc.ca>

Staphylococcus aureus <https://publications.msss.gouv.qc.ca>

Tristan A et Rasigade J., 2019. https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Staphylococcus.pdf

Verdier I et al., 2012. Staphylococcus [en ligne], <http://www.microbe-edu.org/etudiant/staph.html> consulté en novembre

Vuichard-Gysin D, 2021.

https://www.swissnoso.ch/fileadmin/swissnoso/Dokumente/5_Forschung_und_Entwicklung/8_Swissnoso_Publikationen/211115_StAR_Teil_II_FR_MDRO-non-outbreak_FINAL.pdf

www.techmicrobio.eu/systematique/staphylococcus.pdf

ANNEXE



ANNEXE

Annexe N°1 : Composition des milieux de cultures utilisés

Milieu	Composition
Gélose nutritif	Chlorure de sodium 5 g Gélose 15 g Peptone 10 g Extrait de viande 5 g (PH=7,2)
Muller Hinton (MH)	Extrait de viande 2 g Gélose 10 g Amidon 1,5 g Hydrolysat acide de caséine 17,2 g (PH=7,4)
Hekteon	Extrait de levure 3 g Lactose 12 g Saccharose 12,0 g Sels biliaires inhibiteur 9 g Bleu de bromothymol : indicateur de PH 0,065 g Chlorure de sodium 5 g Agar 14 g (PH = 7,6)
Chapman	<ul style="list-style-type: none"> • Tryptone : 5 g/l • Extrait de levure : 3 g/l • Extrait de viande : 3 g/l • Chlorure de sodium : 70 g/l • Péptone Bactériologique : 10 g/l • Mannitol : 10 g/l • Rouge de Phénol : 0,05 g/l • Agar : 7,4±0,1 Préparation : Dissoudre 119,05 g/l dans un litre d'eau distillée.

ANNEXE

Annexe N° 2 : Composition de l'étalon Mc farland (0.5%)

Mc Farland (0.5%)	• BaCl ₂ (1%) 0.1 g • H ₂ SO ₄ (1%).....qsp1 ml
--------------------------	---

- Mélanger 1,0 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) à 99 ml d'eau déminéralisée (solution à 1 % v/v) et
- 1,175 g de chlorure de baryum di-hydraté (BaCl₂·2H₂O) dissous dans 100 ml d'eau déminéralisée (solution à 1,175 % p/v).

Ce mélange produit un précipité de sulfate de baryum dont la turbidité simule une concentration bactérienne.

L'étalon 0,5 correspond à une densité optique de 0,08–0,10 à 625 nm, équivalente à $1,5 \times 10^8$ bactéries/ml.

Annexe N° 3 : Antibiotiques testés pour le Entérobactéries et leurs valeurs critiques selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 2020.

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline + Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8		≤ 2
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	-----	≥ 15	≥ 32	-----	≤ 16
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Imipénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16
Ciprofloxacine	5µg	≤ 21	22 – 25	≥ 26	≥ 1	0,5	≤ 0,25
Ciprofloxacine Salmonella spp.	5µg	≤ 20	21 – 30	≥ 31	≥ 0,06	0,12 - 0,5	≤ 1
Chloramphénic ol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Colistine	CMI	-----	-----	-----	>2**	-----	≤ 2**
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Triméthoprime +Sulfa	1.25/ 23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38

Annexe N°4 : Antibiotiques testés pour le *staphylococcus spp* et leurs valeurs critiques selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 2020.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm) R	I	S	CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$) R	I	S
Pénicilline	10 UI	≤ 28	--	≥ 29	$\geq 0,25$	--	$\leq 0,12$
Oxacilline (S. aureus et S. lugdunensis)	--	--	--	--	≥ 4	--	≤ 2
Cefoxitine (S. aureus et S. lugdunensis)	30 μg	≤ 21	--	≥ 22	≥ 8	--	≤ 4
Oxacilline (SCN sauf S. lugdunensis)	--	--	--	--	$\geq 0,5$	--	$\leq 0,25$
Cefoxitine (SCN sauf S. lugdunensis, S. pseudintermedius...)	30 μg	≤ 24	--	≥ 25	--	--	--
Gentamicine	10 μg	≤ 12	13–14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Amikacine (S. aureus)	30 μg	≤ 16	--	≥ 18	≥ 16	--	≤ 8
Amikacine (SCN)	30 μg	≤ 19	--	≥ 22	≥ 16	--	≤ 8
Érythromycine	15 μg	≤ 13	14–22	≥ 23	≥ 8	1-	$\leq 0,5$
Clindamycine	2 μg	≤ 14	15–20	≥ 21	≥ 4	1 - 2	$\leq 0,5$
Vancomycine (S. aureus)	CMI	--	--	--	≥ 16	4 – 8	≤ 2
Vancomycine (SCN)	CMI	--	--	--	≥ 32	8–16	≤ 4
Teicoplanine	CMI	--	--	--	≥ 32	16	≤ 8
Ofloxacine	5 μg	≤ 14	15–17	≥ 18	≥ 4	2	≤ 1
Ciprofloxacine	5 μg	≤ 15	16–20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Lévofloxacine	5 μg	≤ 15	16–18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1

Triméthoprime + sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11–15	≥16	≥ 4/76	--	≤ 2/38
Rifampicine	5 µg	≤ 16	17 – 19	≥20	≥4	2	≤1
Tétracycline	30 µg	≤ 14	15–18	≥19	≥16	8	≤4
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13–17	≥18	≥32	16	≤8
Quinupristine-dalfopristine	15 µg	≤ 15	16–18	≥19	≥4	2	≤1
Acide fusidique **	10 µg	< 24	--	≥24	>1	--	≤1
Fosfomycine IV **	200 µg	< 23	--	≥23	> 32	--	≤32

RESUME



Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques pose un véritable problème de santé publique. Les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et les Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) sont les plus préoccupants, compte tenu de leur pouvoir pathogène, de leur diffusion au sein des hôpitaux et de leur potentiel de propagation dans la communauté.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de décrire la situation épidémiologique et le profil de résistance des souches SARM et EBLSE isolées au niveau du service de pédiatrie de l'hôpital El Mansourah de Constantine, ainsi que d'explorer des alternatives de lutte contre cette résistance par l'évaluation de l'activité antibactérienne de la propolis vis-à-vis des BMR étudiées.

L'isolement et l'identification des bactéries ont été réalisés selon les méthodes bactériologiques classiques. L'antibiogramme a été effectué par la méthode de diffusion sur milieu solide, selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. La production de BLSE chez les entérobactéries a été détectée par les tests de synergie et de double disque, tandis que la détection des SARM a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque de céfoxitine chargé à 30 μ g.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de la propolis a été réalisée également par antibiogramme sur milieu solide.

L'étude du profil épidémiologique de ces BMR, au sein du service de pédiatrie de l'hôpital El Mansourah à Constantine, de janvier 2022 à avril 2025, a révélé une prévalence des SARM et des EBLSE de respectivement 3,30 % et 20,62 %. Les services les plus touchés par ces deux BMR sont ceux de la réanimation et des maladies contagieuses (CTX).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé des taux de résistance élevés, en particulier pour les familles des β -lactamines, des fluoroquinolones et des aminosides. En revanche, certains antibiotiques conservent une bonne activité : la vancomycine, l'acide fusidique et la rifampicine pour les SARM, ainsi que l'imipénème, la colistine et le chloramphénicol pour les EBLSE.

L'extrait éthanolique de propolis (EEP) étudié a montré une bonne activité antibactérienne vis-à-vis des souches SARM, mais aucune activité n'a été détectée contre les entérobactéries productrices de BLSE.

Mots-clés : Résistance aux antibiotiques, Bactéries multirésistantes, SARM, EBLSE, Profil de résistance, Propolis, Extrait éthanolique de propolis (EEP), Infections nosocomiales.

Abstract

Abstract

The resistance of bacteria to antibiotics poses a real public health problem. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and extended spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae (ESBL) are the most concerning, given their pathogenicity, of their dissemination within hospitals and their potential for spread in the community.

In this context, the objective of this study is to describe the epidemiological situation and the resistance profile of MRSA and ESBL strains isolated at the pediatric department of the hospital El Mansourah of Constantine, as well as to explore alternatives for combating this resistance by evaluating the antibacterial activity of propolis against the BMRs studied.

The isolation and identification of bacteria were carried out according to classical bacteriological methods. The antibiogram was performed by the solid medium diffusion method, according to the recommendations of the Antibiogram Committee of the French Society of Microbiology.

The production of ESBL in enteric bacteria was detected by synergy and double disc tests, while the detection of MRSA was determined by measuring the diameter of the inhibition zone around a cefoxitin disc charged to 30 μ g.

The evaluation of the antibacterial activity of propolis was also carried out by antibiogram on solid medium.

The study of the epidemiological profile of these BMRs, within the pediatric department of El Mansourah hospital in Constantine, from January 2022 to April 2025, revealed a prevalence of MRSA and ESBL of 3,30% and 20.62%. The services most affected by these two BMRs are those of resuscitation and contagious diseases (CTX).

The study of antibiotic sensitivity revealed high rates of resistance, particularly for the β -lactam families, fluoroquinolones and aminoglycosides. On the other hand, some antibiotics retain good activity: vancomycin, fusidic acid, and rifampicin for MRSA, as well as imipenem, colistin, and chloramphenicol for ESBL.. The ethanolic propolis extract (EEP) studied showed good antibacterial activity against MRSA strains, but no activity was detected against ESBL-producing enterobacteria..

Keywords: Antibiotic resistance, Multiresistant bacteria, MRSA, ESBL, Resistance profile, Propolis, Ethanolic extract of propolis (EEP), Nosocomial infections.

ملخص

تُعد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية مشكلة حقيقة تهدد الصحة العامة. تُعتبر العقديات الذهبية المقاومة للميتسيلين (SARM) والمعويات المنتجة للبيتا-لاكتاماز ذات الطيف الواسع (BLSE) من أكثر السلالات إثارة للقلق، نظراً لقدرتها المرضية وانتشارها داخل المستشفيات، بالإضافة إلى إمكانية انتقالها إلى المجتمع.

في هذا السياق، هدفت هذه الدراسة إلى وصف الوضع الوبائي ودراسة نمط المقاومة لدى سلالات SARM و BLSE المعزولة من مصلحة طب الأطفال بمستشفى المنصورة – قسنطينة، كما سعت إلى البحث عن بدائل طبيعية لمواجهة هذه المقاومة، من خلال تقييم النشاط المضاد للبكتيريا المستخلص البروبيوليس الإيثانولي تجاه هذه السلالات متعددة المقاومة.

تم عزل وتشخيص السلالات البكتيرية باستخدام الطرق البكتريولوجية الكلاسيكية، وأجري اختبار الحساسية للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار على وسط صلب وفقاً لتوصيات الجنة الفرنسية لاختبار المضادات الحيوية. تم الكشف عن إنتاج البيتا-لاكتاماز واسعة الطيف باستخدام اختبار التأزرر وختبار القرص المزدوج، في حين تم التعرف على MRSA بقياس قطر منطقة التثبيط لقرص السيفوكسيتين (30 ميكروغرام). أما تقييم النشاط المضاد للبروبيوليس فتم بنفس الطريقة. كشفت الدراسة الوبائية، خلال الفترة من يناير 2022 إلى مارس 2025، عن نسبة انتشار بلغت 3.30٪ لـ SARM و 20.62٪ لـ BLSE. وكانت مصالح الإنعاش والأمراض المعدية الأكثر تأثيراً.

أظهرت اختبارات الحساسية معدلات مقاومة مرتفعة خاصة لعائلة البيتا-لاكتاميات، الفلوروكيتونات، والأمينوغликوزيدات، في حين احتفظت بعض المضادات بفعاليتها مثل الفانكوميسين، حمض الفوسفديك، والريفامبيسين ضد SARM، والإيميبينيم، الكوليستين، والكلورامفينيكول ضد BLSE.

أظهر مستخلص البروبيوليس الإيثانولي نشاطاً ملحوظاً ضد سلالات SARM، لكنه لم يُظهر أي فعالية ضد المعويات المنتجة لـ BLSE.

الكلمات المفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية، بكتيريا متعددة المقاومة، BLSE، SARM، نمط المقاومة، البروبيوليس، المستخلص الإيثانولي للبروبيوليس، العدوى المرتبطة بالمستشفيات.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie et Hygiène Hospitalière**Étude épidémiologique de bactéries multi-résistantes (BMR) : cas des EBLSE et SARM au niveau de l'EHS Sidi Mabrouk – Hôpital Pédiatrique El Mansourah**

La résistance des bactéries aux antibiotiques pose un vrai problème de santé publique. Les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) sont les plus préoccupants compte tenu de leur pouvoir pathogène, de leur diffusion au sein des hôpitaux et de leur potentiel de diffusion dans la communauté. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude a décrit la situation épidémiologique, et le profil de résistance des souches SARM et EBLSE isolés au niveau de la pédiatrie d'El Mansourah Constantine et de trouver des alternatifs de lutte contre cette résistance par l'évaluation de l'activité antibactérienne de la propolis vis-à-vis des BMR étudiés.

L'isolement et l'identification de bactéries ont été réalisés selon les méthodes bactériologiques classiques. L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu solide selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. La production de BLSE chez les entérobactéries a été détectée par les tests : test de synergie et test de double disque et la détection des SARM a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition d'un disque de céfoxidine chargé à 30 μ g. Tandis que l'évaluation de l'activité antibactérienne de la propolis a été réalisée par antibiogramme sur milieu solide. L'étude du profil épidémiologique de ces BMR au niveau de la pédiatrie El Mansourah de Constantine de janvier 2022 jusqu'au mars 2025 a révélé une prévalence des SARM et des EBLSE respectivement de 3,30% et 20,62%. Les services les plus touchés par les deux BMR sont ceux de la réanimation et des maladies contagieuses (CTX). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé des taux de résistance élevés, en particulier pour la famille des β -lactamines, des fluoroquinolones et aminosides. En revanche certains antibiotiques conservent une bonne activité : la vancomycine, l'acide fusidique et la rifampicine pour les SARM et l'imipénème la colistine et le chloramphénicol pour les EBLSE. L'extrait éthanolique de la propolis (EEP) étudié a donné une bonne activité antibactérienne vis à vis des souches SARM mais aucune activité n'a été détectée contre les entérobactéries productrices EBLSE.

Mots-clés : Résistance aux antibiotiques, Bactéries multirésistantes, SARM, EBLSE, Profil de résistance, Propolis, Extrait éthanolique de propolis EEP, Infections nosocomiales.

Laboratoires de recherche : laboratoire de Microbiologie faculté des sciences de la nature Université de Constantine 1

Présidente du jury : Dr BATAICHE Insaf (MC(A) - U Constantine1 Frères Mentouri).

Encadrante : Dr ADOUI Mounira (MC(B) - UFM Constantine 1).

Examinateuse : Dr HARZALLAH Besma (MC(A) - UFM Constantine 1)

