

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE.**

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERRI DE TIZI OUZOU.

**FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES.**

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE.



**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences
Biologiques**

Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème

**Recherche de bactéries à Gram négatif résistantes
aux carbapénèmes à partir de prélèvements cliniques du CHU
Nedir Mohammed Tizi Ouzou**

Réalisé par :

M^{elle} Ait Boudrar Djouher et M^{elle} Abdi Ahlem

Jury composé de :

Présidente : Mme DERMECHE.S	MCB	UMMTO
Examineur : Mr MSELA.A	MCB	UMMTO
Promotrice : Mme MEGUENI.N	MCA	UMMTO

Année universitaire : 2023-2024

Remerciement

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'achever ce Modeste travail.

Ensuite, nos profonds remerciements s'adressent à notre promotrice

Mme MEGUENNI Nacima, pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour ses conseils, et son aide ainsi que pour sa gentillesse et sa disponibilité, son assistance et son soutien indéfectible.

Veillez croire à l'expression de notre profonde reconnaissance et notre grand respect.

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury, qui nous fait l'honneur d'examiner et de juger notre travail : **Mme DERMECHE Samia** Présidente du jury, et **Mr MSELA Amine** examinateur.

Nous prenons aussi un réel plaisir à remercier chaleureusement tout Le personnel et spécialement **Mr LAHLAB.M** qui nous a guidé et patiemment conseillé pour la réalisation de la grande partie de notre travail au sein du laboratoire de microbiologie au niveau de CHU de TIZI OUZOU.

Enfin, nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

A mon cher papa,

A toi qui es mon repère, mon exemple et ma force. Papa, tu as toujours été là, prêt à tout sacrifier pour me voir avancer, pour m'offrir une vie meilleure. Je sais combien de batailles tu as mené en silence, combien de fois tu as choisi de mettre mes rêves avant les tiens, juste pour me rassurer. Ta force et ton courage sont ma plus grande source d'inspiration chaque jour, je me lève avec la volonté de réussir, non seulement pour moi mais surtout pour toi pour te voir fière. Je t'aime papa plus que les mots ne peuvent jamais le dire, merci d'être ma lumière, mon guide et le plus beau des papas.

A ma chère maman,

Merci pour ton amour inconditionnels et ton soutien constant. Tu es le cœur de notre famille, la personne qui apaise, encourager et inspire. Tu es la douceur et la chaleur qui apaise les tempêtes de ma vie, chaque nuit blanche, chaque moment de doute que tu as apaisé à contribuer à la personne que je suis aujourd'hui.

Chaque ligne de ce mémoire, chaque page est une lettre d'amour de gratitude et d'admiration pour vous deux .Merci pour tout ce que vous avez donné et continuez de donner, je vous aime profondément.

A mon cher oncle Adel et ma chère tante Saliha,

Adel , tu es plus qu'un oncle, tu es un deuxième père pour moi. Ton amour, ta présence et ton soutien ont été des trésors précieux tout au long de mon parcours.

Je t'aime profondément et je te remercie d'être mon pilier dans les moments de doute et ma lumière dans les moments d'incertitudes.

Saliha, tu es bien plus qu'une tante pour moi ; tu es ma seconde mère. Grace à toi j'ai trouvé la force et la détermination nécessaire pour poursuivre mes études et atteindre mes objectifs. je t'aime .

A ma grand-mère kheloudja ,

Ton amour et ta présence ont illuminé ma vie de mille façons. Ta tendresse, tes conseils ont été des piliers essentiels dans mon cheminement.

A mes petits frères,

Vous êtes ma joie, ma force. Votre amour et votre sourire me donnent la volonté de toujours aller de l'avant .Merci d'être toujours là pour moi.

À ma meilleure amie Djouher, avant même d'être ma binôme, tu es celle qui rend chaque jour plus lumineux par ta présence. Ta gentillesse, ta joie de vivre, et ton soutien inébranlable font de toi une personne unique et précieuse dans ma vie. Merci d'être une partenaire incroyable et une source constante de motivation. Ta détermination et ton enthousiasme rendent chaque défi plus facile à surmonter. Heureuse de partager ce parcours avec toi.

Ahlem



Dédicace

Avec une joie immense et le cœur ému que je dédie ce mémoire à ma chères familles pour leurs affectations inépuisables et leurs précieux conseils. Ils n'ont cessé de prier pour moi durant mon cursus scolaire et m'ont encouragé régulièrement.

A ma mère

Source inépuisable de tendresse , de patience et de sacrifices. Ta prière et ta bénédiction m'ont été un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire , je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. J'espère ne jamais te décevoir , ni trahir ta confiance et tes sacrifices . Puisse Dieu tout puissant , te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père

De tous les pères , tu es le meilleur. Aucune dédicace ne saurait exprimer ma reconnaissance et mon profond amour. Puisse Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur .Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester , j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père.

A mon cher grand frère

Mon compagnon de route et sources inépuisable de soutien. Même si t'es loin de nous ton encouragement sans faille a illuminé chaque étape de mon parcours. Je te souhaite une vie pleine de bonheur et réussite. Dieu te préserve.

Sans oublier Ahlem, une chère amie avant d'être binôme, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce mémoire. Qu'Allah préserve notre amitié.

A tous ceux que j'aime, et à tous ceux qui m'aiment...

Djouher 

Sommaire

Listes des figures

Liste des tableaux

Listes des abréviations

Introduction..... 1

Partie bibliographiques

Chapitre 1 : Caractères généraux de certaines bactéries d'importances clinique

Les entérobactéries	2
1. Généralités.....	2
2. Caractères généraux	2
3. Taxonomies.....	2
4. Caractères bactériologiques.....	3
5. Etude des principales entérobactéries.....	6
5.1 Le genre <i>Escherichia</i>	6
5.2 Le genre <i>Klebsiella</i>	7
5.3 Le genre <i>Enterobacter</i>	8
5.4 Le genre <i>Serratia</i>	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
1. Généralités.....	10
2. Taxonomie.....	10
3. Habitats.....	11
4. Caractères bactériologiques.....	11
5. Pouvoir pathogène.....	12
Chapitre 2 : Les antibiotiques	
1. Définition des antibiotiques.....	13
2. Classification des antibiotiques.....	13
2.1 Selon l'origine.....	13
2.2 Selon le mode d'action.....	13
2.3 Selon le spectre d'activité.....	14
2.4 Selon l'effet antibactérien.....	14
2.5 Selon la nature chimique.....	15
3. Les beta lactamines.....	15
3.1 Structure et classification.....	15
4. Les carbapénèmes.....	17
4.1 Classification des carbapénèmes.....	17
4.2 Mécanisme d'action.....	17
4.3 Spectre d'activité.....	18
4.4 Utilisation des carbapénèmes.....	18
Chapitre 3 : La résistance aux antibiotiques	
1. Résistance bactérienne face aux antibiotiques.....	19
2. Type de résistance aux antibiotiques.....	19
2.1 Résistance naturelle.....	19
2.2 Résistance acquise.....	19
3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	20
4. Méthodes de mesure de la résistance bactérienne.....	24

Partie expérimentales

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

1. Objectif.....	25
2. Lieu et durée d'étude.....	25
3. Nature des prélèvements.....	25
4. Matériels.....	25
5. Méthodes.....	25
5.1 Prélèvement des urines.....	25
5.1.1 Etude cyto bactériologique.....	25
5.1.2 Etude bactériologique.....	26
5.2 Prélèvement de pus.....	26
5.3 Prélèvement de coprologie.....	27
5.4 Prélèvement vaginal.....	27
6. Identification.....	27
6.1 Etude macroscopique.....	27
6.2 Etude microscopique.....	27
6.1.1 Etat frais.....	27
6.1.2 Coloration de Gram.....	28
6.3 Tests d'orientation.....	28
6.3.1 Test d'oxydase.....	28
6.3.2 Test de catalase.....	28
6.3.3 Api20E.....	29
6.1.3 Antibiogramme.....	30
Chapitre 5 : Résultats	
1.1 Etat frais.....	33
1.2 Coloration de Gram.....	33
1.3 Ensemencement.....	33
1.4 Tests biochimiques.....	35
1.5 Résultats de la galerie Api20E.....	36
2. La répartition des isolats.....	38
2.1 La répartition des germes selon la nature de prélèvements.....	38
2.2 La répartition des souches selon les services.....	39
2.3 La répartition des germes selon le sexe.....	40
2.4 La répartition des germes selon la catégories d'âge.....	41
2.5 La répartition selon la nature de la résistance à l'antibiotique.....	42
2.6 La répartition selon le sexe.....	44
2.7 La répartition selon l'âge.....	46
Chapitre 6 : Discussions.....	49
Conclusion.....	52
Références bibliographiques.....	53
Annexes.....	61

Listes des figures

Figure 1. (A) observation de la morphologie microscopiques des entérobactéries (X1000)..... (b) Observation microscopiques des entérobactéries mobile par flagelle péritriche (X1000)	4
Figure 2. Cibles des principaux antibiotiques.....	14
Figure 3. Les différentes structures de base des classes de β -lactamines.....	15
Figure 4. Les modes de transmission de matériel génétique.....	20
Figure 5. Les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	21
Figure 6. La résistance par efflux actif.....	22
Figure 7. La résistance par l'inactivation enzymatique de l'antibiotiques.....	23
Figure 8. L'automate VITEK® 2 compact.....	31
Figure 9. Observation microscopique des bacilles à Gram négatif après coloration de Gram.. (x100).	33
Figure 10. Aspect macroscopique des souches isolées.....	35
Figure 11. Réaction positive de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à l'oxydase.....	35
Figure 12. Réaction positive des entérobactéries et <i>Pseudomonas</i> à la catalase.....	36
Figure 13. Résultats de l'identification biochimiques de <i>E.coli</i>	36
Figure 14. Résultats de l'identification biochimiques de <i>K pneumoniae</i>	37
Figure 15. Résultats d'identification biochimique d' <i>Enterobacter cloacae</i>	37
Figure 16. Résultats d'identification biochimiques de <i>P aeruginosa</i>	38
Figure 17. Répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement.....	39
Figure 18. Répartition des souches isolées selon les services.....	40
Figure 19. Répartition des souches isolées selon le sexe.....	41
Figure 20. Répartition des souches isolées selon l'âge.....	42
Figure 21. Pourcentage de résistance et de sensibilités des souches isolées à l'Imipénème....	43
Figure 22. Pourcentages de résistance et de sensibilité des souches isolées à l'Ertapénème....	44
Figure 23. Répartition de résistance des souches isolées à l'Imipénème selon le sexe.....	45
Figure 24. Répartition de résistance des souches isolées à l'Ertapénème selon le sexe.....	46
Figure 25. Répartition de résistance des souches isolées à l'Imipénème selon l'âge.....	47
Figure 26. Répartition de résistance des souches isolées à l'Ertapénème selon l'âge.....	48

Listes tableaux

Tableau I. Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en.....3 clinique humaine	3
Tableau II : Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>10	10
Tableau III : Différentes cas où l'antibiotique nécessite l'utilisation des carbapénèmes....18	18
Tableau IV : Lecture de la galerie biochimique de Api20E de <i>E.coli</i>36	36
Tableau V : Lecture de la galerie biochimique de Api20E de <i>Klebsiella pneumoniae</i>37	37
Tableau VI : Lecture de la galerie biochimique de Api20E d' <i>Enterobacter cloacae</i>37	37
Tableau VII: Lecture de la galerie biochimique Api20E de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>38	38

Listes des abréviations

- ERT : Ertapénème
- IMP : Imipénème
- BLSE : Béta- lactamases à spectre étendu
- GN : Gélose nutritive
- GSC : gélose au sang cuit
- GSF : gélose au sang frais
- INF : Service infectieux
- PU CHR : Pavillon d'urgences chirurgicales
- PU MED : Pavillon d'urgences médicales
- PU PED : Pavillon d'urgences pédiatriques
- Ext : Externe
- ECBU : Examen cyto bactériologique des urines
- Pv : Prélèvement vaginal
- Copro : Coprologie
- ONPG : l'ortho-nitro-phényl-galactoside
- ADH : Arginine dihydrolase
- LDC : Lysine décarboxylase
- ODC : Ornithine-décarboxylase
- CIT : Citrate
- TDA : Tryptophane désaminase
- GEL : Gélatinase
- INO : Inositol
- SOR : Sorbitol
- RHA : Rhamnose
- SAC : Saccharose
- MEL : Mélibiose
- AMY : Amygdaline
- ARA : Arabinose
- BGT : Bouillon Glucosé Tamponné
- BHIB : Bouillon cœur-cervelle

Résumé

Les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* sont des bactéries à Gram-négatif qui peuvent provoquer des infections opportunistes. Les entérobactéries se trouvent habituellement dans le tube digestif, mais elles peuvent causer des infections comme les infections urinaires et les bactériémies. De même *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales. Connue pour sa résistance aux antibiotiques et sa capacité à former des biofilms, cette bactérie représente un défi majeur dans le traitement des infections hospitalières.

Notre étude a eu pour objectif d'évaluer le profil de la résistance aux carbapénèmes (Ertapénème et Imipénème) et de détecter la présence des souches productrices de BLSE (bêta-lactamase à spectre élargi) de souches d'entérobactéries (143 souches d'*Escherichia coli*, 48 souches de *Klebsiella pneumoniae*, 13 souches d'*Enterobacter cloacae* et 4 souches de *Serratia marescens*) et un total de 36 de *Pseudomonas aeruginosa*. Ces souches ont été isolées de différents prélèvements pathologiques humains (urines, pus, coprologie, prélèvements vaginaux) de l'hôpital CHU « Nedir Mohamed » de Tizi-Ouzou.

La répartition des 244 isolats, montre une prédominance des entérobactéries dans les prélèvements urinaires, dont le service le plus touché est celui d'urgence pédiatrique. De plus, les infections ont atteint essentiellement le sexe féminin. En revanche, une prévalence significativement plus élevée de *Pseudomonas aeruginosa* a été observée dans les prélèvements de pus, notamment ceux issues des services de chirurgie chez les hommes.

L'Imipénème et l'Ertapénème présentent une efficacité généralement avec des niveaux de sensibilité plus élevés par rapport à la résistance pour la majorité des bactéries testées notamment *E. cloacae* et *S. marescens*. Cependant, *K. pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* affichent une résistance significative à l'imipénème (5,76%), malgré une sensibilité encore observable. Par contre, aucune souche productrice de BLSE (bêta lactamases à spectre étendu) n'a pu être détectée durant la courte période de notre stage.

L'apparition des résistances est probablement due à la consommation abusive d'antibiotiques. Il est donc nécessaire de promouvoir une utilisation appropriée des antibiotiques, de mener une surveillance continue des profils de résistance notamment pour ces molécules de dernier recours et de développer des nouvelles options thérapeutiques et d'adopter des règles d'hygiène strictes.

Mots clés : Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, résistance, Ertapénème, Imipénème, BLSE.

Abstract

Enterobacteria and *Pseudomonas aeruginosa* are Gram-negative bacteria that can cause opportunistic infections. Enterobacteria are typically found in the digestive tract, but they can cause infections such as urinary tract infections and bacteremia. Similarly, *Pseudomonas aeruginosa* is a pathogen frequently involved in nosocomial infections. Known for its antibiotic resistance and its ability to form biofilms, this bacterium represents a major challenge in the treatment of hospital-acquired infections.

Our study aimed to evaluate the resistance profile to carbapenems (ertapenem and imipenem) and to detect the presence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing strains among enterobacteria (143 *Escherichia coli* strains, 48 *Klebsiella pneumoniae* strains, 13 *Enterobacter cloacae* strains, and 4 *Serratia marcescens* strains) and a total of 36 *Pseudomonas aeruginosa* strains. These strains were isolated from various human pathological samples (urine, pus, stool, vaginal swabs) at the "Nedir Mohamed" CHU hospital in Tizi-Ouzou.

The distribution of the 244 isolates shows a predominance of enterobacteria in urine samples, with the most affected department being pediatric emergency. Furthermore, the infections predominantly affected the female sex. In contrast, a significantly higher prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* was observed in pus samples, particularly those from surgical services in men.

Imipenem and ertapenem generally show effectiveness, with higher levels of sensitivity compared to resistance for most of the bacteria tested, particularly *E. cloacae* and *S. marcescens*. However, *K. pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* display significant resistance to imipenem (5.76%), despite some observable sensitivity. On the other hand, no ESBL-producing strain was detected during the short period of our study.

The emergence of resistance is likely due to the overuse of antibiotics. Therefore, it is necessary to promote appropriate use of antibiotics, conduct continuous monitoring of resistance profiles, especially for these last-resort molecules, develop new therapeutic options, and adopt strict hygiene practices.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, resistance, Ertapenem, Imipenem, ESBL.

INTRODUCTION

Depuis la découverte et l'utilisation des antibiotiques, l'antibiothérapie a permis le traitement d'un grand nombre d'infections bactériennes et d'améliorer l'espérance de vie humaine. Ceci nous a laissé croire que le combat contre les infections bactériennes était gagné. Malheureusement, avec l'utilisation abusive et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques par le développement de nombreux mécanismes que ce soit d'origine chromosomique ou plasmidique (AIRES, 2011).

L'émergence de la résistance aux antibiotiques engendre de graves conséquences sanitaires et économiques. Elle est responsable d'une augmentation de la morbidité et de la mortalité, de la durée d'hospitalisation et conduit à utiliser des médicaments plus onéreux et souvent plus toxiques (OUEDRAOGO et al., 2017).

Les β -lactamines qui sont les antibiotiques les plus utilisés en médecine humaine sont classées selon leurs structures chimiques dans 4 groupes distincts : les pénicillines, les céphalosporines, monobactame et les carbapénèmes (Imipénème, Ertapénème). Les carbapénèmes sont les β -lactamines les plus récemment développées et celles qui possèdent le spectre d'activité le plus large. Elles sont actives vis-à-vis de très nombreuses espèces de bacilles à Gram négatif dont les entérobactéries (DORTET et al., 2013), qui sont parmi les souches les plus fréquemment isolées et constituent une des familles bactériennes les plus importantes en pathologie humaine. Celles-ci font partie de la flore digestive, mais elles sont souvent responsables d'infections nosocomiales (TANI, 2014). Ce sont des bactéries de plus en plus résistantes aux antibiotiques et en particulier aux carbapénèmes par la production des carbapénèmases qui hydrolysent ces antibiotiques (BARAN et AKSU, 2016). *Pseudomonas aeruginosa* est impliqué dans des infections opportunistes responsables dans des conditions favorables, d'infections graves communautaires et surtout nosocomiales (BOUSQUET et MÉRENS, 2018). Ce pathogène se caractérise par sa résistance intrinsèque élevée à de nombreux antimicrobiens et sa capacité à acquérir une résistance même à des molécules à large spectre tels que les carbapénèmes (FELIPE et al., 2019).

Les carbapénèmases sont des enzymes considérées comme une menace pour la santé publique. Elles confèrent dans la grande majorité des cas à la bactérie une résistance à toutes les β -lactamines et particulièrement aux carbapénèmes, qui sont parmi les rares médicaments de dernière ligne, disponibles pour la thérapie contre les infections graves, telles que les bactériémies, causées par les souches multirésistantes, notamment celles exprimant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (VAUX et al., 2011).

Dans cette perspective, le but de ce travail est d'analyser le profil de résistance des isolats de bactéries à Gram négatif telles que *Pseudomonas aeruginosa* et d'entérobactéries spécifiquement (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Serratia marcescens*) provenant du CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou.

Pour atteindre cet objectif, nous avons suivi la démarche suivante :

- Isolement et identification des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et d'entérobactéries à partir de prélèvements d'urines, de pus, de coprologie et vaginal, issus de différents services.
- Étude de l'antibiorésistance des isolats par rapport aux carbapénèmes (Ertapénème et Imipénème) et la détection de souches produisant des BLSE.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1
CARACTÈRES GÉNÉRAUX
DE CERTAINES
BACTÉRIES
D'IMPORTANCE CLINIQUE

Les entérobactéries

1. Généralités

En 1937, Otto RAHN proposa pour la première fois un groupe qu'il dénomma *Enterobacteriaceae* dans lequel il rassembla les genres bactériens tel que (*Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella*) qui présentent des propriétés morphologiques et biochimiques communes dans un genre unique : *Enterobacter* (JOLY & REYNAUD, 2004)

Le nom "entérobactérie" fait référence à la localisation d'une famille de microorganismes dans le tube digestif et principalement dans le côlon de l'Homme et des animaux. Ces microorganismes sont très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénicité et de leur écologie. Les espèces qui composent la famille des entérobactéries sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*) soit saprophytes (*Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*) (GADOU, 2019).

Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, leur rapidité de multiplication et leur fréquente résistance aux antibiotiques expliquent le fait qu'elles soient les bactéries les plus impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier. Leur distribution dans la nature est néanmoins plus large, puisqu'on les retrouve notamment chez les végétaux et dans l'environnement (sol et eau) (KHAYAR, 2011).

2. Caractères généraux

La famille des Entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- ❖ Ce sont des bacilles à Gram négatif
- ❖ Mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles
- ❖ Aéro ou anaérobies facultatifs
- ❖ Fermentent le glucose avec ou sans production de gaz
- ❖ Réduisent les nitrates en nitrites
- ❖ Possédant une catalase
- ❖ Ne possèdent pas d'oxydase
- ❖ Ne formant pas de spores
- ❖ Possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunitz ou ECA (enterobacterial common antigen) (DELARRAS, 2014).

3. Taxonomie

Les entérobactéries appartiennent au règne des Bacteria, à l'embranchement des Proteobacteria, à la classe des Gammaproteobacteria à l'ordre des Enterobacteriales et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Actuellement plus de 40 genres et plus de 1700 espèces différentes sont décrits au sein de cette famille. Leur classification est basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfures, présence ou absence de certaines enzymes du métabolisme), et/ou génotypiques (ribotypage, hybridation ADN/ADN) (DENIS et al., 2007).

Tableau I : Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine (LARPENT,2000).

Groupe	Famille	Genre	Espèce
GROUPE I	<i>Edwardsiella</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>S. paratyphi</i> <i>S. enteritidis</i>
GROUPE II	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
	<i>Levineae</i>	<i>Levineae</i>	
GROUPE III	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxymore</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogen</i> <i>Enterobacter cloaceae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
GROUPE IV	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
GROUPE V	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i>

4. Caractères bactériologiques

➤ Caractères morphologiques

Les entérobactéries ont une famille de bactéries Gram négatives se caractérise par leur forme bâtonnet (bacillaire) avec des dimensions généralement comprises entre 1 et 5µm. Généralement polymorphes, de nombreuses espèces sont mobiles grâce à une flagelle péritriche, d'autres sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*). La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez *Klebsiella*. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion, elles ne produisent pas de spores (PATRICK et al.,2021 ;WINN WASHINGTON et al.,2020).

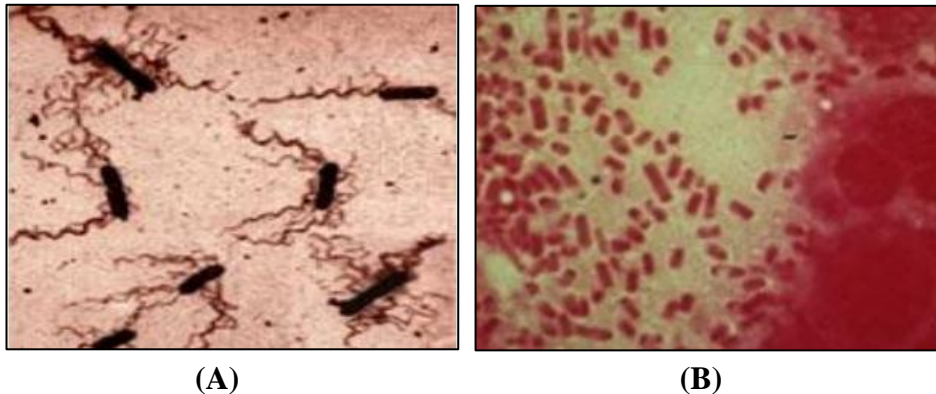


Figure 1 : (A) observation de la morphologie microscopiques des entérobactéries (X1000).

(b) observation microscopiques des entérobactéries mobile par flagelle péritriche (X1000) (Anonyme ,2014).

➤ Caractères culturaux

Elles ont la capacité de pousser facilement sur des milieux ordinaires (gélose ou bouillon nutritif) en 18 à 24 h. La température optimale de croissance est de 37°C mais la culture est possible entre 20° et 40°C en aérobiose ou en anaérobiose. Leur pousse se révèle par un trouble uniforme du bouillon et par l'apparition de colonies d'un diamètre supérieur à 1 mm sur milieu gélosé.

Ainsi on distingue trois types de colonies :

-Les formes S (smooth) sont l'aspect habituel. Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles sont entre 2 à 4mm 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.

-En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.

-Colonies M (muqueuses) : grosses colonies ± confluentes (*Klebsiella spp*).

Envahissement de la gélose : formation d'un tapis uniforme (*Proteus*) (TIDRARINE, 2019).

➤ **Caractères biochimiques**

L'identification des entérobactéries nécessite l'utilisation des tests biochimiques, parmi les tests les plus utilisés : le type de fermentation, l'utilisation du lactose et du citrate et la production d'indole à partir du tryptophane.

Les caractères biochimiques communs sont :

- Oxydase négative.
- Catalase positive sauf *Shigella dysenteriae* sérovar 1.
- Aéroanaérobies facultatives.
- Réduction des nitrates en nitrites.
- Fermentation du glucose avec ou sans production du gaz (PRESCOTT et *al.*, 2018).

➤ **Caractères antigéniques**

L'identification des *Enterobacteriaceae* se fait par l'étude des caractères biochimiques. La détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont l'identification est certaine. Toute autre façon de faire peut qu'entraîner des erreurs du fait d'agglutinats croisés non spécifiques.

- Les antigènes O

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou l'acide.

Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation.

-Les antigènes H

Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. Les réactions d'agglutination se produisent rapidement et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation.

-Les antigènes K

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B, d'*E. coli* et l'antigène Vi de certaines *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O. Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99).

- L'antigène de Kunitz

Cet antigène commun des *Enterobacteriaceae* n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique (KANSAYE, 2020).

5. Etude des Principales entérobactéries

5.1 Le genre *Escherichia coli*

E.coli est l'espèce type du genre *Escherichia* qui a été dénommé d'après le médecin allemand THEODORE ESCHERICH (1857-1911), qui en 1885a identifié un commensal commun du tractus gastro-intestinal isolé dans la matière fécale des nouveau-nés et des nourrissons précoces, cette espèce bactérienne fut baptisée *Bacillus* ou *Bacterium coli* commune, puis renommée, en 1919 sur proposition, et en 1958 officiellement, *Escherichia coli* (YU et al., 2021).

E.coli est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (JEAN et al., 2018).

5.1.1 Habitat

E. coli est une bactérie commune de la microflore commensale intestinale de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux).

Elle colonise de manière asymptomatique le tractus digestif de l'homme les premières heures qui suivent la naissance et constitue dès lors l'espèce bactérienne dominante de la flore anaérobie facultative du colon humain ; sa niche écologique se trouve dans la couche de mucus sécrétée par l'épithélium du côlon où elle assure, avec les autres composants de la microflore, une barrière de protection de la muqueuse.

La concentration en *E. coli* par grammes de selles varie d'un individu à un autre de 10^7 à 10^9 unités formant des colonies (UFC). Elle est plus faible chez les autres mammifères ; sa présence dans l'eau est un indice de contamination fécale de l'eau (PANTEL, 2015).

5.1.2 Caractères bactériologiques

➤ Caractères cultureux et morphologiques

C'est un bacille à bouts arrondis, aéro-anaérobie facultatif, d'environ 2-3 μm de long et 0,6 à 0,7 μm de diamètre, Gram négatif, non sporulé et souvent mobile par une ciliature péritriche (HUFNAGEL et al., 2015 ; PANTEL, 2016). La culture d'*E. coli* est facile. Le pH et la température optimaux sont respectivement de 7 et 37°C. Il se développe sur un certain nombre de milieux ordinaires ou sélectifs, L'aspect des colonies varie selon le milieu nutritif utilisé (OUBOUYAHIA et NASSIK, 2021).

➤ Caractères biochimiques

E. coli possède les caractères biochimique suivants :

- Les caractères négatifs : oxydase, gélatinase, H_2S , Citrate de Simmons, VP, uréase, ADH, TDA.
- Les caractères positifs : catalase, nitro-réductase, glucose, lactose, mannitol, sorbitol, Gaz en glucose, ONPG, indole, RM.
- ODC (+/-), LDC (+/-) (CLAVE, 2015).

5.1.3 Pouvoir pathogène

E. coli peuvent se transformer en bactéries pathogènes et provoquent plusieurs types d'infections mais aussi des gastro-entérites graves et mortelles en cas de manque de traitement. Ils existent deux types d'*E. coli* pathogènes : soit d'origine extra-intestinales : urinaire, abdominale, méningées néo-natal et septicémies ou soit d'origine intestinales (diarrhéiques) ou Entérique : responsables de gastro-entérites infantiles ou des diarrhées des voyageurs (COHEN et al., 2012).

Le groupe (*Klebsiella*– *Enterobacter* – *Serratia*)

Les bactéries du genre *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* sont des bactéries à Gram négatif, appartiennent à la flore intestinale normale et sont rarement pathogènes chez leurs hôtes habituels (LARRY et al., 2018).

5.2 Le genre *Klebsiella*

On distingue plusieurs espèces mais *Klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine.

Le nom *Klebsiella* provient du nom du bactériologiste KLEBS (1877) et l'espèce type dénommée « pneumobacille » par FRIEDLANDER qui l'a décrite comme agent de pneumonies mortelles pendant la période 1882- 1884 (BELBEL, 2014).

5.2.1 Habitat

Klebsiella pneumoniae peut survivre dans une multitude de niches écologiques, à la fois libres et associées à l'hôte (WYRES et al., 2020). Dans l'environnement elle est fréquemment trouvée: dans l'eau, les eaux usées, le sol et sur les surfaces végétales. Chez l'être humain *Klebsiella pneumoniae* colonise les surfaces muqueuses y compris le nasopharynx et le tractus gastro-intestinal (EL KHOURY, 2019). Elle est communément retrouvée aussi au niveau de la peau et de la bouche. Plusieurs études montrent que le taux de portage de *Klebsiella* parmi les patients hospitalisés était beaucoup plus élevé (19% nasopharynx, 42% au niveau des mains). Les principaux réservoirs pathogènes de *Klebsiella* se trouvent au niveau du tractus gastro-intestinal et au niveau des mains du personnel hospitalier (PAVAGEAU, 2017).

5.2.2 Caractères bactériologiques

➤ Caractères morphologiques et culturels

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif toujours immobiles, non sporulés, en forme de tige (SQUEGLIA et al., 2020). Elle mesure de 2 µm de long et 0,5 µm de large. Généralement elles possèdent une capsule ce qui augmente sa virulence et lui apporte une barrière de protection physique contre la réponse immunitaire de l'hôte et la dessiccation (VICTOIRE, 2019). Elle est une bactérie d'importance clinique (D'APOLITO et al., 2020). Elle pousse sur milieux ordinaires. Son métabolisme respiratoire est aérobie-anaérobie facultatif. Les colonies apparaissent rondes bombées, d'aspect plus ou moins muqueux en 18 heures, à 37°C. Les colonies sont lactose + sur les milieux utilisés pour les entérobactéries qui contiennent du lactose (CLAVE, 2013).

➤ Caractères biochimiques

Klebsiella possède les caractères biochimiques suivants :

Caractères négatifs : oxydase, H₂S, ODC, ADH, TDA, Indole.

Caractères positifs : catalase , gaz en glucose, sorbitol, citrate de Simmons, LDC, uréase, ONPG, VP, nitrate réductase (CLAVE,2013).

5.2.3 Pouvoir pathogène

Certaines souches de *Klebsiella pneumoniae* agissent comme des pathogènes opportunistes, infectant les patients gravement malades et immunodéprimés. Elles sont une cause fréquente d'infections associées aux soins de santé, notamment la pneumonie, les infections des voies urinaires et les infections de la circulation sanguine (MARTIN et BACHMAN, 2018).

5.3 Le genre *Enterobacter*

Ce germe comprend plusieurs espèces dont : *Enterobacter cloacae* est l'espèce type.

Ce genre Il a été décrit pour la première fois en 1960 (DAVIN-REGLI et al., 2019).

5.3.1 Habitat

Les espèces d'*Enterobacter* colonisent souvent le tractus gastro-intestinal humain, provoquant diverses infections opportunistes. *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter asburiae* sont les espèces d'*Enterobacter* les plus fréquemment isolées (VARAPRASAD et al., 2020). De nombreuses épidémies ont été décrites, y compris des infections dues à des aliments contaminés, des humidificateurs et du matériel de thérapie respiratoire et de l'eau d'hydrothérapie dans une unité de brûlés (VILLEGAS, 2017).

5.3.2 Caractères bactériologiques

➤ Caractères morphologiques et cultureux

Enterobacter cloacae est un bacille à Gram négatif aéro-anaérobie facultatif non sporulant qui mesure entre 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur, mobile grâce à des flagelles péritriches et est doté de pilus de classe 1. Sur gélose nutritive, *Enterobacter cloacae* forme des colonies rondes avec un diamètre de 2 mm et légèrement plates avec des bords irréguliers (GADOU, 2019).

➤ Caractères biochimiques

Enterobacter cloacae possède les caractères biochimique suivants :

Caractères positifs : catalase ; nitratase ; glucose ; lactose ; ONPG ; citrate ; VP ; ODC ; ADH.

Caractères négatifs : oxydase ; H₂S ; indole ; LDC ; gélatinase (CLAVE,2011).

5.3.3 Pouvoir pathogène

Enterobacter possède un pouvoir pathogène et une virulence qui lui permet d'être une bactérie pathogène opportuniste capable de causer des infections et des maladies divers chez l'homme (DAVIN-REGLI, Lavigne et Pages, 2019), notamment une bactériémie, des infections des voies respiratoires et urinaires, une endocardite, des infections intraabdominales et oculaires, une arthrite septique. Il peut causer aussi des abcès cérébraux, une pneumonie ou une méningite (MEZZATESTA et al., 2012).

5.4 Le genre *Serratia*

Ce genre comporte dix espèces dont *Serratia marcescens* est l'espèce type et la plus fréquemment isolée chez l'Homme.

5.4.1 Habitat

Serratia marcescens est une espèce ubiquitaire qui se trouve dans la nature (eau, sol, plantes, insectes, animaux), dans l'environnement hospitalier (sols, air, eau ou siphons des éviers) et le matériel médical (MAHLEN,2011).

5.4.2 Caractères bactériologiques

➤ Caractères morphologiques et culturels

Les espèces du genre *Serratia* sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles, aéroanaérobies facultatives . Elles donnent parfois des colonies blanches, rouges ou roses apparaissent rondes bombées, lisses en 18 heures, à 37°C. Les colonies sont lactose sur les milieux utilisés pour les entérobactéries qui contiennent du lactose (CLAVE, 2018).

➤ Caractères biochimiques

Serratia marcescens possède les caractères biochimiques suivants :

Caractères positifs : catalase ; VP ; LDC ; ODC ; citrate ; ONPG ; gaz en glucose ; nitrate réductase.

Caractères négatifs : oxydase ; uréase ; H₂S (CLAVE, 2018).

5.4.3 Pouvoir pathogène

Serratia marcescens est une bactérie pathogène opportuniste .Elle est impliquée dans les infections urinaires, chez des patients sondé, opérées, explorés, dans les broncho-pneumopathies (pneumopathies acquises sous ventilation mécanique), bactériémies, infections des voies biliaires et les surinfection de plaies (CLAVE, 2018).

Pseudomonas aeruginosa**1. Généralités**

Pseudomonas aeruginosa, appelé également bacille pyocyanique, appartient à la famille des Pseudomonadaceae. Cette espèce a été décrite pour la première fois dans un article scientifique en 1882, par Carle Gessard, comme l'agent responsable du pus de coloration bleu-verte dans le cadre d'infections cutanées. Elle est capable de produire plusieurs pigments, la pyocyanine (pigment bleu-vert spécifique de l'espèce), la pyoverdine (pigment jaune-vert fluorescent) (PACHORI et al., 2019).

C'est une bactérie pathogène opportuniste capable d'infecter un large spectre d'hôte : humains, souris, plantes, insectes, nématodes ou amibes. Chez l'homme, cette bactérie affecte particulièrement les personnes immunodéprimées, les grands brûlés et les patients en soins intensifs (ROSSIGNOL, 2007).

2. Taxonomie

La classification en genres et espèces à l'intérieur de la famille des *Pseudomonadaceae* a longtemps reposé sur des caractères phénotypiques simples d'orientation. La simplification de cette classification a été réalisée par SATINER (1966) qui a étudié principalement l'assimilation des substrats carbonés (auxanogramme) et par PALLERONI (1984) qui a classé les espèces de *Pseudomonas* en cinq groupes génomiques (DENIS et al., 2016).

La taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* est présentée dans le (Tableau 2).

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>

Tableau II: Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* (DENIS et al., 2016).

3 Habitat

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquitaire de l'environnement, pouvant se développer chez l'homme, les animaux, les végétaux ainsi que dans divers environnements, notamment aquatiques. L'hôpital constitue ainsi une niche favorable à son développement où différents réservoirs ont été identifiés, tels que les réseaux d'eaux (ABDOUCHAKOUR et *al.*, 2015), les lavabos, matériels d'analyses mal nettoyés, solutions d'antiseptiques contaminées etc. Ces réservoirs ont été identifiés comme pouvant être à l'origine d'infections associées aux soins (IAS).

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie versatile, possédant des propriétés d'adaptation à de nombreuses conditions physico-chimiques, lui permettant de survivre ou de s'adapter dans ces différents environnements (MAGALHÃES et *al.*, 2020).

4 Caractères bactériologiques

➤ Caractères morphologiques

Pseudomonas aeruginosa est un bacille fin sous forme de bâtonnet de 1 à 5 µm de longueur et 0,5 à 1 µm de largeur (CHAKER, 2012). C'est une bactérie à Gram-, non sporulée, strictement aérobie (cytochrome oxydase), généralement non capsulée mais parfois entourée d'une pseudo-capsule, elle est très mobile grâce à la présence de plusieurs flagelles polaires. Elle est mésophile et capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C, mais il faut bien savoir que sa température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C (CLAVE, 2011).

➤ Caractères cultureux

Pseudomonas aeruginosa cultive facilement sur milieux ordinaires en développant une odeur de seringa. La température optimale de croissance est de 30 °C. Sur milieux solides, trois types de colonies peuvent être observés simultanément ou de manière isolée :

Colonies larges de 2 à 3 mm de diamètre, à bords irréguliers, rugueuses, avec une partie centrale bombée présentant des reflets métalliques ;

Colonies plus petites lisses bombées à bords réguliers ;

Colonies muqueuses, bombées, coalescentes, filantes, rencontrées chez les souches produisant un slime composé d'un polymère exo polysaccharidique appelé alginate (DENIS et *al.*, 2016).

➤ **Caractères biochimiques**

Pseudomonas aeruginosa possède une oxydase. Elle ne fermente pas les sucres, mais elle peut oxyder certains avec acidification du milieu, et elle est capable d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme seule source de carbone et d'énergie (citrate de Simmons, mannitol et xylose). En anaérobiose, utilise les nitrates comme accepteur final d'électrons (nitrates réductase positives). Les autres caractères biochimiques sont les suivants : gélatinase positives, lactose négatif, ADH positive, indole négatif (FRENEY, 2007).

Pseudomonas aeruginosa produit deux types de pigments (fluorescent ou non) qui servent à son identification. Ils peuvent être mis en évidence dans les milieux King B et King A :

- La pyoverdine: pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme.
- La pyocyanine (phénazinique) : pigment bleu-vert non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme. Cette espèce est la seule à les produire (DELARRAS, 2007).

➤ **Caractères antigéniques**

Pseudomonas aeruginosa présente deux types d'antigènes, à savoir un antigène somatique O qui est un lipopolysaccharide associé à une protéine constituant la paroi cellulaire. Cet antigène joue un rôle crucial dans la virulence de la bactérie ainsi que dans la réponse immunitaire et un antigène flagellaire H protéique, thermolabile permettant un typage qui en combinaison avec le typage O, permet de reconnaître au moins 25 sérovars (CADY, 2006 ; CHAIBDRAA et al., 2008).

5 Pouvoir pathogène

Pathogène opportuniste, elle est responsable d'infections de localisations diverses chez des patients ayant des défenses antibactériennes altérées. *Pseudomonas aeruginosa* est ainsi responsable d'infections cutanées, oculaires, auriculaires, neuroméningées, de bactériémies mais cette espèce est principalement responsable d'infections respiratoires, (particulièrement en réanimation ou chez les patients atteints de CF) et d'infections urinaires (IU) (Oliveira et al., 2020).

CHAPITRE 2 : LES ANTIBIOTIQUES

1. Définition des antibiotiques

Le terme d'antibiose est créé par VUILLEMIN (France) en 1889 pour décrire une situation dans laquelle un micro-organisme détruit un autre (PAOLOZZI et LIEBART, 2015).

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

L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit des types de bactéries différentes, plus son spectre est large.

Les antibiotiques sont caractérisés par leur :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité) ;
- Toxicité sélective (mode d'action) ;
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique) ;
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme (MEHDI, 2008).

2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

2.1 Classification selon l'origine

Les antibiotiques ont 3 origines :

2.1.1 Antibiotiques naturels

Sont produits par des micro-organismes :

- Champignons: Pénicilline produite par *Penicillium*, Céphalosporine produite par *Cephalosporium*.
- Bactéries : (ex : streptomycine produite par *Streptomyces*) (CHARDON et BRUGERE, 2014).

2.1.2 Antibiotiques synthétiques

Ce sont des produits obtenus entièrement par voie chimique (ex : les quinolones) (CHARDON et BRUGERE, 2014).

2.1.3 Antibiotiques semi-synthétiques

Ils sont obtenus en insérant un radical chimique dans une structure moléculaire naturelle (ex : la méticilline) (CHARDON et BRUGERE, 2014).

2.2 Classification selon le mode d'action

La fonction antibactérienne signifie comment un antibiotique agit ou quel est son mode d'action sur des cibles spécifiques (figure 2) qui sont les processus ou les fonctions responsables de la croissance bactérienne. Les mécanismes d'actions d'antibiotiques sont: l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, et déstructure de la membrane cellulaire et

dégradation de la fonction, la perturbation de la structure et la fonction des acides nucléiques, la perturbation de la synthèse des protéines et le blocage des voies métaboliques clés (ULLAH et ALI, 2017 ; SHIFABEGUM et al., 2021; PANCU et al., 2021).

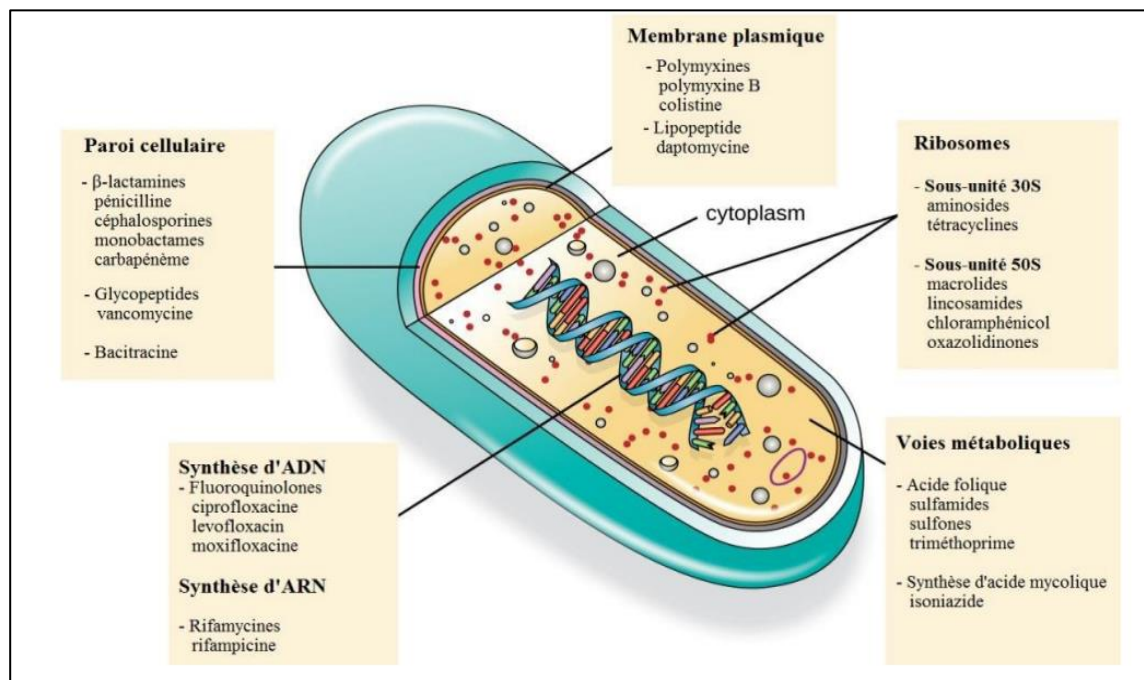


Figure 2: Cibles des principaux antibiotiques (PARKER et al., 2016).

2.3 Classification selon le spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un anti-infectieux correspond à l'ensemble des espèces bactériennes qui lui sont sensibles. Lorsque le spectre d'activité est limité à un certain nombre d'espèces bactériennes, il est dit « étroit », tandis qu'un antibiotique actif sur de nombreuses bactéries est dit à spectre « large ».

Une bactérie insensible à un antibiotique est définie comme étant résistante. Un antibiotique à spectre large agit sur un grand nombre de bactéries (sur les bacilles et coques Gram + et Gram -). Un antibiotique à spectre étroit agit seulement sur les bacilles et coques Gram + ou Gram - (AGREGÉ et al., 2015).

2.4 Classification selon l'effet antibactérien

L'effet bactériostatique est l'arrêt du développement des micro-organismes par inhibition partielle ou totale de leur croissance sans les tuer. Mais de hautes concentrations de la plupart des agents bactériostatiques sont également bactéricides.

La bactériostase est exprimée en concentration minimale d'inhibition, (CMI), celle-ci est importante pour l'établissement d'un antibiogramme.

L'effet bactéricide c'est l'arrêt de développement des micro-organismes par mort cellulaire avec ou sans lyse. Ces propriétés bactéricides varient d'une substance à l'autre, en termes de spectre d'action, d'efficacité, de durée d'action. La bactéricidie est exprimée en concentration minimale bactéricide (CMB) (ACHAB et *al.*, 2013).

2.5 Classification selon la nature chimique

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémisynthèse. Elle permet de classer les antibiotiques en familles (bêta-lactamines, aminosides, tétracyclines, etc...) (SENHADJI, 2019).

L'intérêt sera porté sur la famille des bêta-lactamines.

3. Les bêta -lactamines

Les β -lactamines sont des agents bactéricides qui interrompent la formation de la paroi cellulaire bactérienne par une liaison covalente aux protéines de liaisons des pénicillines (PLP) (BUSH et BRADFORD, 2016). Ces derniers, situées dans l'espace périplasmique, sont directement accessibles chez les bactéries Gram-positives mais protégées par la membrane externe chez les bactéries Gram-négatives, que les β -lactamines doivent traverser (BAMBEKE et *al.*, 2017).

3.1 Structure et classification

Les β -lactamines ont en commun une structure appelée l'anneau β -lactame, qui est formée de quatre membres : trois atomes de carbone et un atome d'azote. Cet anneau constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules (AYAD, 2017).

Il existe de nombreuses variétés de bêta-lactamines ayant toutes en commun le noyau bêta-lactame (qui est la partie efficace de la molécule) (VASSEUR, 2014). Cette famille comprend cinq principaux groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes et les inhibiteurs de β lactamase (figure 3)

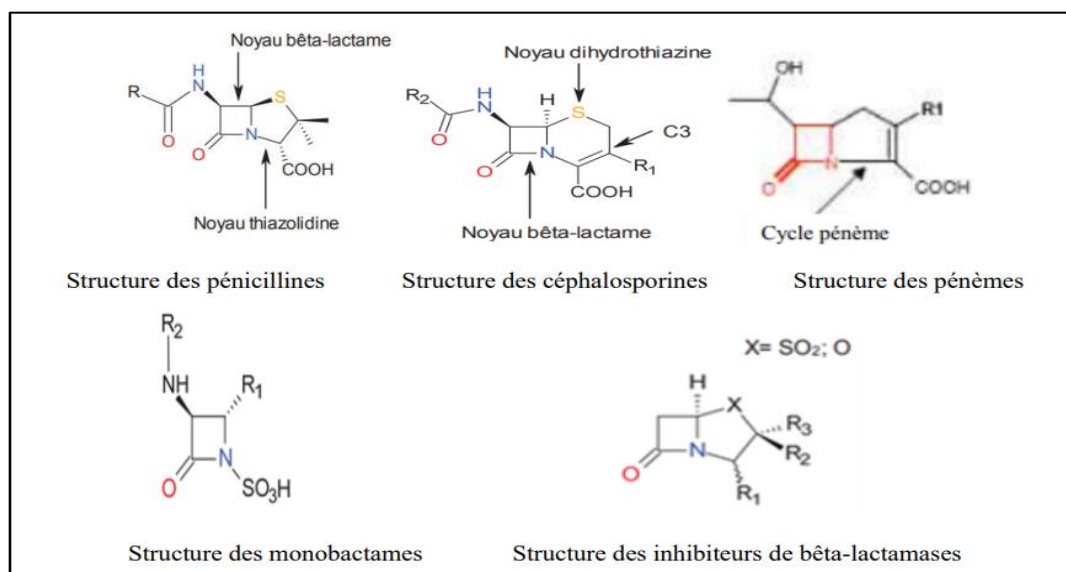


Figure 3: Les différentes structures de base des classes de β -lactamines (CHEMELLE, 2010 ; CHOQUET, 2016).

3.1.1 Les Pénames (Pénicillines)

Il s'agit d'un groupe de molécules, ayant en commun le noyau pénème, qui est caractérisé par un pentacycle saturé (cycle thiazolidine) associé au noyau β -lactame. Selon la nature de la chaîne latérale, plusieurs sous-classes ont été définies, dont les plus utilisées sont les aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) les uréidopénicillines (pipéracilline) et les amidinopénicillines (pivmecillinam)(RUPPÉ,2010).

3.1.2 Les céphèmes (céphalosporine)

Leur noyau de base associe un cycle β -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former le noyau céphème. La particularité du noyau céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les propriétés antibactériennes différentes des céphalosporines, justifiant leur distinction fonctionnelle en plusieurs générations, de spectre et d'intérêt clinique variables (CAVALLO et *al*, 2004). On distingue ainsi:

- Les céphalosporines de première génération (C1G) : elles sont plutôt actives sur les bactéries à Gram positif. Exemples : céfalotine, céfazoline et céfalexine.
- Les céphalosporines de deuxième génération (C2G) : elles ont un spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif. Exemples : céfamandole, céfuroxime, céfoxitine et céfotétan.
- Les céphalosporines de troisième génération (C3G) : elles ont un spectre étendu à la plupart des entérobactéries. Exemples : céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone et céfopérazone.
- Les céphalosporines de quatrième génération (C4G) : elles sont relativement stables à l'hydrolyse des céphalosporinases. Elles restent actives sur les entérobactéries ayant acquis une résistance aux C3G par hyperproduction d'une céphalosporinase. Exemples : céfépime et céfpirome (RUPPÉ, 2010).

3.1.3 Les monobactames

Se caractérisent par la présence du noyau monocyclique β lactame contrairement aux pénicilline et céphalosporine. L'aztréonam est l'unique monobactame utilisé dans le domaine hospitalier. Il est actif contre les bactéries à Gram-négatif mais inefficace contre les bactéries à Gram-positif et les bactéries à Gram-positif et négatives à métabolisme anaérobique (VALÉRIAN, 2018).

3.1.4 Inhibiteurs de β -lactamases

Les inhibiteurs de β -lactamase sont des dérivés de l'acide clavulanique et de l'acide pénicillinique. Ce sont des inhibiteurs suicides de β -lactamase qui possèdent une faible activité antibactérienne intrinsèque. Ces inhibiteurs β -lactamases doivent être associés à d'autres β -lactames ayant une bonne activité antibactérienne. Lui permettent de conserver son activité vis à vis des souches productrices de β -lactamases. Les associations bien connues sont : amoxicilline-acide clavulanique et ticarcilline-acide clavulanique (BOISSON et MIMOZ, 2018).

3.1.5 Pénèmes

Ils ont un cycle pentagonal insaturé. Les carbapénèmes feront l'objet de notre étude

4 Les carbapénèmes

Les carbapénèmes, dernières antibiotiques de la classe des β -lactamines, ont une grande stabilité vis-à-vis de la majorité des β -lactamases (GRALL et *al.*, 2011). Elles sont caractérisées par un noyau pénème et dérivent de la thiénamycine. Cette dernière est produite naturellement par *Streptomyces cattleya*. L'atome de soufre du pentacycle pénème est remplacé par un atome de carbone pour donner un noyau pénème. Cette introduction du carbone dans le noyau pentagonal, à l'origine de terme de carbapénème, renforce le pouvoir de fixation aux protéines cibles (CAVALLO et *al.*, 2004). Elles exercent leur activité bactéricide en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation aux protéines de la liaison des pénicillines (PLP). Quatre molécules sont actuellement disponibles sur le marché : l'imipénème depuis 1986, le méropénème depuis 1997, l'értapénème depuis 2002, et plus récemment le doripénème (GRALL et *al.*, 2011).

Les carbapénèmes sont la classe d'antibiotiques la plus vigoureuse qui a fait ses preuves en termes d'efficacité dans le traitement des infections graves à bactéries à Gram négatif (TOUATI et MAIRI, 2019).

4.1 Classification des carbapénèmes

Certains auteurs ont proposé une classification des différentes carbapénèmes :

- Le groupe 1 comprend des molécules à large spectre avec une efficacité limitée sur les bacilles à Gram négatif non fermentant (ertapénème essentiellement).
- Le groupe 2 comprend les molécules ayant une bonne efficacité sur les bacilles à Gram négatif non fermentant (imipénème, méropénème, doripénème).
- Le groupe 3 comprend notamment le composé PZ-601, une carbapénème en cours de développement avec une activité anti-Gram positif, notamment le staphylocoque résistant à la méticilline (FIGUEIREDO, 2011 ; GAUZIT, 2012).

4.2 Mécanisme d'action

Les carbapénèmes ont en commun d'être actifs sur les bactéries à Gram négatif ainsi que sur les bactéries à Gram positif, qu'elles soient de métabolisme aérobie ou anaérobie. A l'instar des autres β -lactamines, ils exercent leur activité bactéricide par fixation aux PLP. Contrairement aux céphalosporines et aux aminopénicillines qui se lient principalement à la PLP 3, les carbapénèmes ont pour cibles privilégiées les PLP 1a, 1b et 2, avec pour conséquence une lyse sans filamentation préalable et une moindre libération d'endotoxine par les bacilles à Gram négatif. Ils n'ont peu ou pas d'activité sur les PLP de faible affinité rencontrées principalement chez les bactéries à Gram positif telles que la PLP2a des SARM et la PLP5 retrouvée chez les entérocoques, ce qui explique les lacunes du spectre de ces antibiotiques. Les différences d'affinité pour certaines PLP pourront expliquer les quelques disparités retrouvées dans les spectres des membres de cette famille (QUELLEC, 2015).

4.3 Spectre d'activité

Les carbapénèmes sont efficaces contre une large gamme de bactéries à Gram négatif et à Gram positif (ZHANEL *et al.*, 2007). Concernant les bacilles à Gram négatif, ces antibiotiques occupent une place très importante dans le traitement des infections dues aux entérobactéries productrices des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et/ou des céphalosporinases de haut niveau codé par des gènes chromosomiques ou des gènes plasmidiques et aux BGN non fermentaires multirésistantes sensibles qu'aux carbapénèmes. Cependant, l'ertapénème a une activité limitée sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, ce qui rend son utilisation clinique limitée (GRALL *et al.*, 2011 ; NORDMANN, 2010). Les carbapénèmes sont inefficaces contre *Stenotrophomonas maltophilia*, qui produit naturellement une métallo-bêta-lactamase et elles sont également inefficaces contre *Enterococcus faecium*. Cependant, l'imipénème peut avoir une activité contre *Enterococcus faecalis* (GRALL *et al.*, 2011).

4.4 Utilisation des carbapénèmes

En générale, la prescription des carbapénèmes doit être envisagée au dernier recours pour le traitement des infections bactériennes, le tableau ci-dessous énumère les différents cas où l'antibiothérapie nécessite l'utilisation des carbapénèmes.

Syndromes cliniques	Selon le germe (infection sévères)
<ul style="list-style-type: none"> -Infection nosocomiale sévères (pneumonie , sinusite sur une intubation nasotrachéale). - Sepsis d'origine inconnue. - Infection intra abdominales sévères. - Méningites bactériennes. 	<ul style="list-style-type: none"> -<i>Acinetobacter spp.</i> -<i>Pseudomonas aeruginosa.</i> -<i>Alcaligenes spp.</i> -Entérobactéries : - <i>Enterobacter spp.</i> - <i>Serratia spp.</i> - <i>Citrobacter spp.</i> - <i>Proteus spp.</i> - <i>Escherichia coli</i> ou <i>Klebsiella spp</i> avec ESBL ou AmpC.

Tableau III : Différents cas où l'antibiotique nécessite l'utilisation des carbapénèmes (FIGUEIREDO,2011 ; GAUZIT,2012).

CHAPITRE 3
LA RÉSISTANCE AUX
ANTIBIOTIQUES

1 Résistance bactérienne face aux antibiotiques

Au cours des dernières décennies, les bactéries multi-résistantes sont l'une des principales menaces pour la vie d'un être humain. Cela est dû à un surdosage d'antibiotiques, une faible stabilité des antibiotiques, une mauvaise internalisation des antibiotiques avec les bactéries (VARAPRASAD *et al.*, 2020). L'évolution de la résistance aux antimicrobiens chez les bactéries est un processus complexe et ancien qui a attiré beaucoup d'attention en devançant la découverte et le développement de nouveaux antibiotiques (HALAT *et al.*, 2016).

La résistance bactérienne est définie comme la capacité des bactéries à survivre et à se multiplier en présence d'antibiotiques qui devraient normalement les tuer ou inhiber leur croissance. Cette capacité résulte souvent de mutations génétiques ou de l'acquisition de gènes spécifiques, rendant ainsi certains traitements inefficaces (HUEMER *et al.*, 2020).

2. Types de résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques peut se manifester de deux manières distinctes : résistance naturelle et acquise.

2.1 Résistance naturelle

Ce type de résistance n'est pas lié à l'utilisation d'antibiotiques, mais découle des caractéristiques structurelles propres à la bactérie. Elle résulte de la résistance intrinsèque, où le micro-organisme ne correspond pas à la structure cible de l'antibiotique, ou bien des antibiotiques qui, en raison de leurs propriétés, ne parviennent pas à atteindre leur cible (THUALFAKAR *et al.*, 2020).

Elle a pour support génétique le chromosome bactérien mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) (LOZNIEWSKI et RABAUD, 2010).

2.2 Résistance acquise

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques souches d'une espèce bactérienne. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle résulte d'une modification du patrimoine génétique de la bactérie soit par mutation chromosomique ou bien extra-chromosomique lui permettant de tolérer une concentration d'ATB plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (LOZNIEWSKI et RABAUD, 2010).

On retrouve deux grands types d'acquisition de résistance

- **Résistance par mutation chromosomique**

Il s'agit d'une mutation chromosomique occasionnant le remplacement d'une base de l'ADN par une autre et conférant une résistance spontanée à une famille d'antibiotique. A noter que cet événement est rare et stable c'est-à-dire que cette résistance va passer aux générations suivantes de bactéries, donc à la descendance. On parle alors de transmission verticale (BATTRAUD, 2017).

- **Résistance par acquisition de gènes (extra chromosomique)**

Appelée aussi transfert latéral de gènes, ce processus permet à un organisme d'intégrer du matériel génétique provenant d'un autre organisme sans en être le descendant. Les éléments échangés sont des éléments génétiques mobiles, des plasmides (cas le plus fréquent), des transposons ou des intégrons (BLAIR et *al.*,2015)

Les mécanismes de transfert génétiques sont illustrés dans la figure ci-dessus

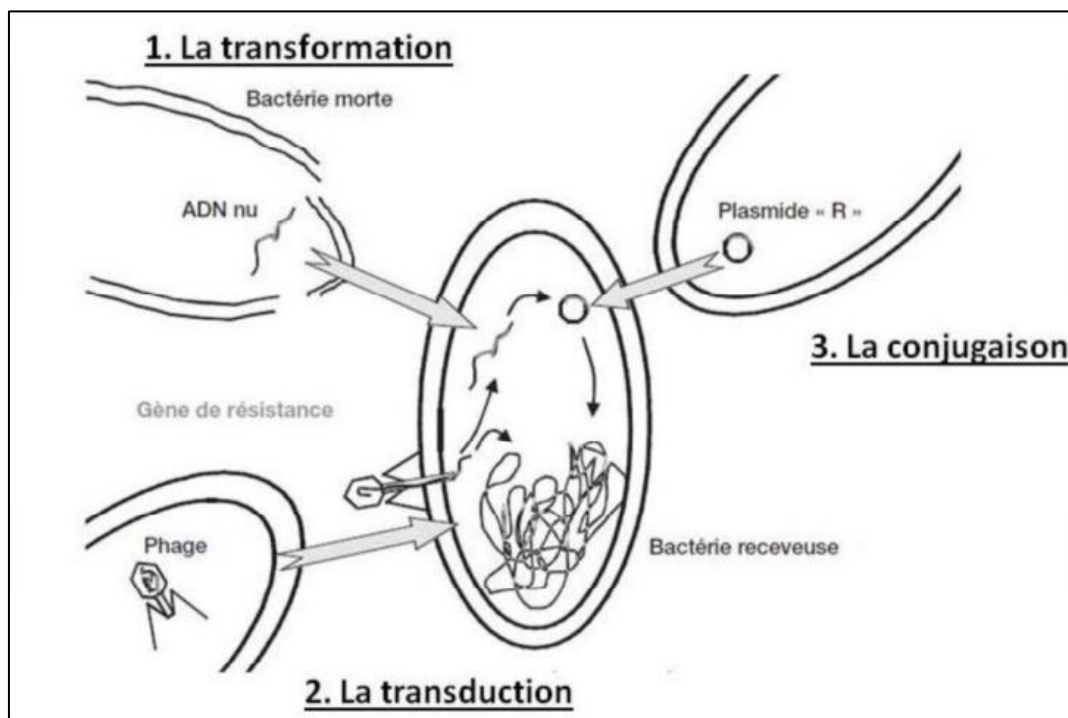


Figure 4: Les modes de transmission de matériel génétique (AFSSA,2006)

3 Mécanismes de résistance aux antibiotiques

les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, parmi eux l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif, la diminution de la perméabilité.

La figure 5 présente une illustration de ces différents mécanismes de résistance au sein de la bactérie.

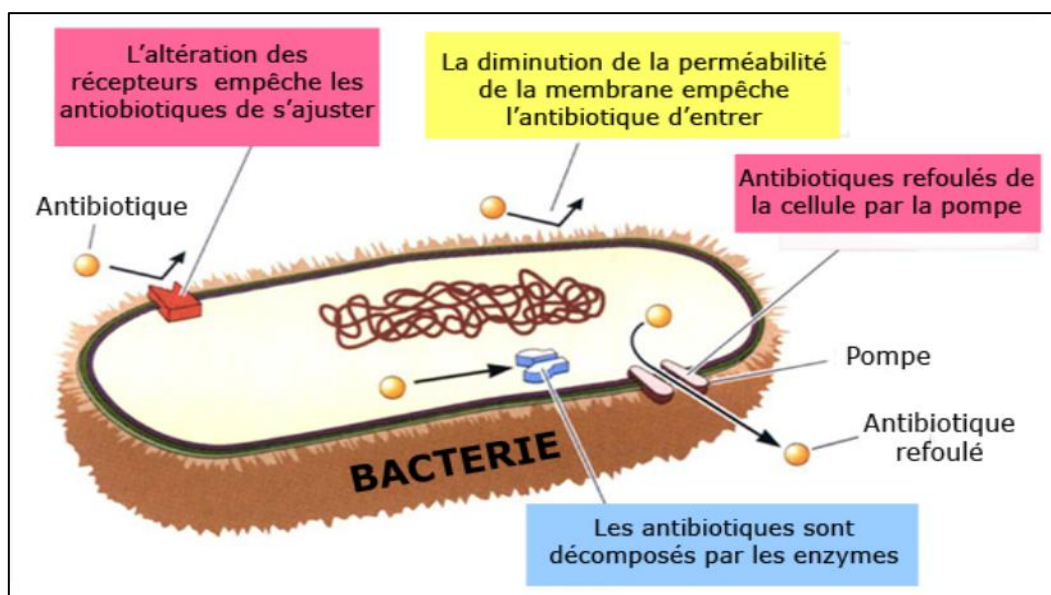


Figure 5: Les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (COULIBLY, 2022).

3.1 Diminution de la perméabilité

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram (-) et permettent le passage de certaines molécules hydrophiles. Des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques. Ces mutations peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément. La fosfomycine pénètre dans le cytoplasme des bactéries par l'intermédiaire du système de transport des glycérophosphates. Des mutations au niveau de ce système de transport entraînent la résistance à la fosfomycine (BOUYAHYA *et al.*, 2017).

3.2 Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut avoir des modifications structurales ou être remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. C'est un mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries à Gram positif, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines (triméthoprime) et les bêta-lactames (MUYLAERT et MAINIL, 2012).

3.3 Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte

une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprim ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes (MUYLAERT et MAINIL, 2012).

3.4 Efflux actif

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments.

Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (figure 6).

On classe ces pompes à efflux sur base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (*specific-drug-resistance*), généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles (ex : résistance aux tétracyclines chez les bactéries Gram négatif), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (*multiple-drug-resistance*), généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques (MUYLAERT et MAINIL, 2012).

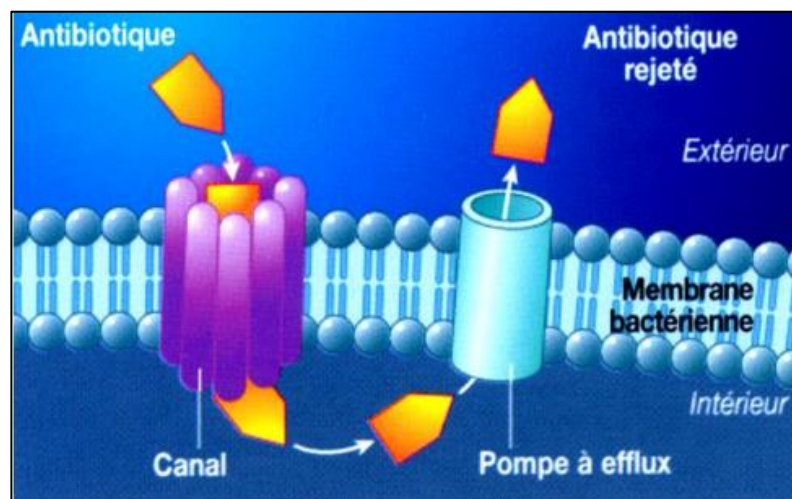


Figure 6 : La résistance par efflux actif (DABAJ, 2021).

3.5 Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames (figure 7), des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (MUYLAERT et MAINIL, 2012).

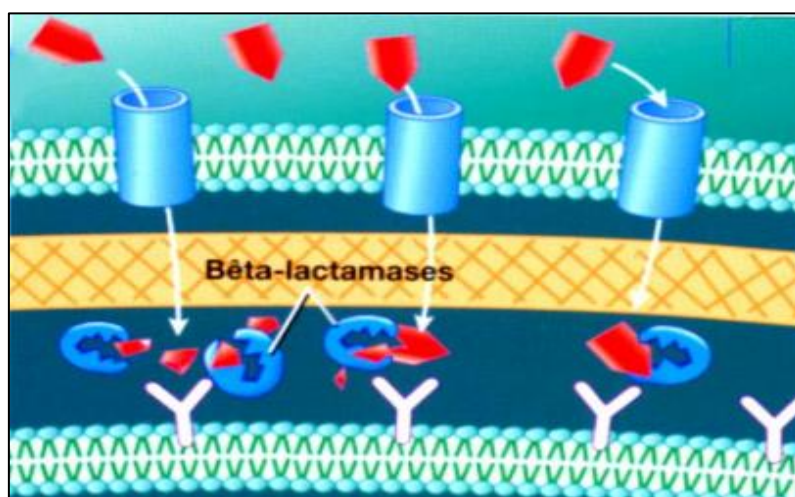


Figure 7 : La résistance par l'inactivation enzymatique de l'antibiotiques (DABAJ, 2021).

3.5.1 Les Bêta-lactamases

Les bêta-lactamases sont des enzymes bactériennes qui catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du cycle lactame des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines. Les gènes qui codent pour ces enzymes sont d'origine chromosomique ou plasmidique. Ces gènes ont aussi été détectés sur des transposons et des intégrons facilitant ainsi le transfert horizontal de ces gènes entre espèces phylogénétiquement éloignées. Ces enzymes sont exportés dans le milieu extracellulaire (bactéries à gram positif) ou périplasmique (bactéries à gram négatif). La production des bêta-lactamases est le mécanisme de résistance le plus répandu et le plus important des bactéries vis-à-vis des bêta-lactamines (GANGOUÉ PIEBOJI,2007).

3.5.1.1 Les bêta-lactamases à spectre étendu

Les BLSE sont définis comme des bêta-lactamase appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler (RODRIGUEZ et STRUELENS, 2006) capable d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines (1ère, 2ème, 3ème et 4ème génération) et les monobactames (BOUJEMAA, 2015). Les BLSE Confèrent donc une résistance à l'ensemble des bêta-

lactamines à l'exception des céphamycines (céfoxitine et céfotétan) et des carbapénèmes (imipénème, ertapénème, etc.). Cependant, Elles peuvent être inhibées *in vitro* par l'acide clavulanique, le tazobactam ou le sulbactam (VODOVAR et *al.*, 2013).

4 Méthodes de mesure de la résistance bactérienne

Pour mesurer microbiologiquement la résistance d'une bactérie la notion communément utilisée est la concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI représente la première concentration en antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée. La mesure de la CMI est souvent accompagnée de la mesure de la concentration minimale bactéricide (CMB). Elle correspond à la concentration permettant de réduire la population bactérienne d'un facteur 1000. Les mesures des CMI et CMB sont dépendantes des conditions de cultures de la bactérie. Les conditions de déterminations de ces indicateurs ont donc été calibrées et standardisées. Ensuite, des antibiogrammes peuvent être réalisés. Leur interprétation repose sur l'évaluation de la CMI en fonction du diamètre d'inhibition. Ces outils permettent de prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques en matière d'efficacité clinique. Ainsi, une souche peut être catégorisée cliniquement de sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles (JULIE, 2014).

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

4. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 Objectifs :

Déterminer la fréquence d'isolement des souches des entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* .

Analyser le profil de résistance de ces bactéries aux carbapénèmes et détecter les souches produisant des BLSE.

2 Lieu et durée de l'étude

Cette étude a été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie du centre hospitalier universitaire Nedir Mohammed (CHU) de Tizi Ouzou pendant une durée d'un mois et demi (45jours) allant de 15 avril au 30 mai 2024.

3 Nature des prélèvements

Les souches d'entérobactéries et de *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolées à partir de différents prélèvements tels que : le pus, les urines, les prélèvements vaginaux, les coprocultures provenant des patients hospitalisés et externes, reçus au laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi Ouzou durant la période d'étude.

4 Matériels

Nous avons utilisé le matériel disponible au niveau de laboratoire microbiologie (voir annexe 1).

5 Méthodes de prélèvements et d'isolements

5.1 Prélèvement des urines

5.1.1 Etude cytobactériologique

C'est un examen microbiologique qui permet à la fois de diagnostiquer une infection urinaire en identifiant le germe responsable et d'aider à choisir le meilleur traitement.

Technique

Après l'homogénéisation des urines, quelques microlitres ont été pris à l'aide d'une micropipette, et déposés entre la cellule de Malassez et la lamelle. Cette étape est suivie d'un dénombrement et d'une observation au microscope optique au grossissement 40.

Lecture

Observation des différents types de cellule présente dans l'échantillon, (les cristaux, les hématies les leucocytes et les cellules épithéliales, les levures, la flore microbienne) et la numérotation des leucocytes (lymphocytes , polynucléaires neutrophiles) par mm³.

5.1.2 Etude bactériologiques

Une culture de germe est réalisée en prélevant une goutte d'urine à l'aide d'une anse calibrée stérile. Ensuite, cette goutte estensemencée en stries serrées sur une gélose nutritive. Les boîtes contenant les échantillons sont ensuite incubées dans l'étuve à 37°C 24 heures.

5.2 Prélèvement de pus

Les prélèvements sont d'origines très diverses. La mise en évidence des bactéries pathogènes dépend de la localisation de la suppuration, du mode du prélèvement (seringue, biopsie) et du mode de transport.

La plupart du temps le pus est recueilli dans deux écouvillons.

Technique

Les échantillons sont dilués en ajoutant du BHIB à chaque écouvillon. À partir de l'un des écouvillons, l'échantillon est déposé sur quatre milieux de culture dans l'ordre suivant : GSC, GSF, Hektoen et Chapman. Ensuite, les milieux sontensemencés par la technique des quatre quadrants à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Par la suite, une petite quantité de l'échantillon est versée dans le bouillon BHIB pour l'enrichissement. Le deuxième écouvillon est utilisé pour lensemencement d'un milieu Sabouraud et la réalisation d'un état frais en déposant quelques gouttes de l'échantillon sur une lame, recouvertes par une lamelle, puis une observation au microscope optique au grossissement 40 est effectuée. Les boîtes, Sabouraud et BHIB, sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 h (pour la GSC et la GSF, elles sont incubées en anaérobiose dans une jarre).

Lecture

-L'état frais permet d'observer les différents types de cellules (hématies, leucocytes, cellules épithéliales...).

-Le milieu Sabouraud est utilisé pour identifier la présence de levures et de champignons.

Remarque : Lors du prélèvement de l'échantillon dans un récipient ou une seringue, les mêmes étapes sont suivies (l'échantillon étant déposé sans être dilué).

5.3 Prélèvement coprologique

L'échantillon recueilli dans un pot.

Technique

Une noisette de selle est prélevée à l'aide d'une anse en platine etensemencée sur le milieu Hektoen par la technique des quatre quadrants. Une autre noisette de selles est placée dans le bouillon SFB (bouillon d'enrichissement). L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 heures. Après 24 heures d'enrichissement, la même opération est répétée jusqu'au 3ème jour.

5.4 Prélèvement vaginale

Les prélèvements vaginaux sont acheminés au laboratoire sous forme de deux écouvillons.

Technique

De l'eau physiologique stérile est ajoutée dans chaque écouvillon. À partir de l'un des écouvillons, les quatre milieux de culture (GSC, GCF, Hektoen, Chapman) sont ensemencés par la technique des quatre quadrants. Le deuxième écouvillon est utilisé pour la réalisation d'états frais : quelques gouttes de l'échantillon sont déposées sur une lame, recouvertes d'une lamelle, puis observées au microscope optique au grossissement 40. L'examen à l'état frais permet de rechercher *Trichomonas vaginalis*, les leucocytes, les hématies, les cellules épithéliales et les levures. Les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures (la GSC et la GSF sont incubées en anaérobiose dans une jarre).

6 Identification

6.1 Etude macroscopique

Il s'agit d'un examen des boîtes de Pétri à l'œil nu ou à faible grossissement sous une loupe binoculaire et de noter les différentes caractéristiques des colonies bactériennes tel que : l'aspect, la forme, la chromogènes, la taille.

6.2 Etude microscopique

Elle consiste en l'étude de la cellule (sa morphologie) sous un microscope en réalisant un état frais et une coloration différentielle de Gram

6.2.1 Etat frais

C'est une étude microscopique des bactéries vivantes, sans fixation ni coloration.

Le but de cette étape est de mettre en évidence : La mobilité, la morphologie et le mode de regroupement.

Technique

Une goutte d'eau physiologique stérile est déposée sur une lame sur laquelle une petite quantité d'une colonie est prélevé à l'aide d'une anse de platine et émulsionné dans cette goutte d'eau. La lame est ensuite recouverte d'une lamelle. L'observation est effectuée sous microscope optique au grossissement 40.

6.2.2 Coloration de Gram

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram positif et Gram négatif. Cette distinction est fondamentale pour leur identification.

Technique

Préparation d'un frottis

Une goutte d'eau physiologique stérile est déposée sur la lame, sur laquelle un peu d'une colonie est prélevé à l'aide d'une anse de platine, émulsionné dans cette goutte d'eau et étalé pour former un film mince. Le frottis est laissé à sécher à l'air libre jusqu'à ce qu'il présente un aspect mat. Il est ensuite fixé à la chaleur en étant passé 3 ou 4 fois sur la flamme du bec Bunsen, puis laissé à refroidir avant d'entreprendre la coloration.

Coloration de Gram

Le frottis bactérien est préparé et recouvert de violet de gentiane, laissé agir pendant une minute. Ensuite, le colorant est rejeté et la préparation est couverte avec la solution Lugol (fixateur), laissée agir également pendant une minute. Après une décoloration à l'alcool à 95° pendant 30 secondes, la préparation est rincée à l'eau. Elle est ensuite recouverte de fuchsine pendant 1 minute, suivie d'un dernier rinçage à l'eau. Enfin, le frottis est séché et observé au microscope optique à immersion avec un grossissement de X100.

Lecture

Les bactéries à Gram positif doivent apparaître colorées en violet

Les bactéries à Gram négatif doivent apparaître colorées en rose

6.3 Tests d'orientation

6.3.1 Test d'oxydase

Ce test permet de détecter l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries à Gram négatif et pour faire ce test les disques oxydase (OX) sont utilisés disques de papier absorbant imprégnés de réactif : l'oxalate de N-diméthyle paraphénylène. A l'aide de l'anse de platine ou pipette Pasteur une colonie est prélevée et déposée sur la zone réactionnelle du disque. La lecture est immédiate et se fait après quelques secondes.

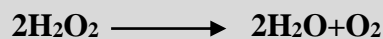
Lecture

Une réaction positive : le disque prend une couleur violette (oxydase +).

Une réaction négative : le disque reste incolore (oxydase -).

6.3.2 Test de la catalase

Ce test est basé sur la recherche d'enzyme qui décompose l'eau oxygénée en eau et en oxygène gazeux selon la réaction suivante :



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

Lecture :

Le test catalase positif se traduit **immédiatement** par l'apparition des bulles d'air (dégagement dioxygène).

Le test catalase négatif lorsqu'il y a absence des bulles d'air ou d'effervescence.

6.3.3 Galerie API20E (galerie miniaturisée)

La galerie API20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Technique

➤ Préparation de la galerie

L'eau distillée est introduite dans les alvéoles au fond de la boîte pour établir une atmosphère humide. Ensuite, la galerie est placée de manière aseptique à l'intérieur de la boîte d'incubation.

➤ Préparation de l'inoculum

Une colonie suspecte parfaitement isolée est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur, puis soigneusement dissociée dans le tube contenant préalablement de l'eau distillée stérile.

➤ Inoculation de la galerie

A l'aide d'une micropipette ou seringue stérile une quantité de la suspension préalablement préparée est prélevée et les microtubes remplis

- Pour les tests CIT, VP, GEL tube et cupule sont remplis.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes.
- Pour les tests LDC, ODC, ADH, H₂S et Urée une anaérobiose est créé en remplissant leurs cupules par l'huile de vaseline.

La galerie est refermée et incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Remarque : il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat. De plus l'apparition de bulles après incubation apportera un caractère d'identification supplémentaire (GAZ+).

Lecture

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

Les réactifs appropriés sont ajoutés aux compartiments :

-Une goutte de réactif de Kovacs à l'IND (faire la lecture dans les minutes qui suivent).
Un anneau rouge indique une réaction positive.

-Une goutte de réactif de VP1 et VP2 (une réaction positive peut prendre jusqu'à 10 minutes).
Une couleur de rose franche indique une réaction positive.

-Une goutte de réactif TDA, une couleur de marron foncé indique une réaction positive.

7 L'antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques.

Il existe deux techniques pour réaliser l'antibiogramme ; la technique classique qui est l'antibiogramme par diffusion des disques, et la technique moderne qui se base sur l'utilisation d'un automate appelé « VITEK » .

7.1 Antibiogramme par diffusion des disques

Technique

➤ Milieu pour l'antibiogramme

Un milieu non sélectif Mueller-Hinton est utilisé. Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm, les boîtes séchées avant leur emploi.

➤ Réalisation de l'inoculum bactérien

L'inoculum bactérien de 10^8 UFC/ml est préparé en raclant une colonie bien isolée et parfaitement identique sur une culture pure âgée de 18 à 24 heures à l'aide d'un écouvillon. Cette colonie est ensuite transférée dans un tube contenant 2,5 ml d'eau physiologique stérile, puis homogénéisée pour obtenir une suspension bactérienne.

➤ Ensemencement

Un écouvillon stérile est utilisé pour immerger dans l'inoculum. Après avoir été essoré en le pressant et en le tournant contre la paroi interne du tube, l'écouvillon est utilisé pour frotter la totalité de la surface de la gélose en réalisant des stries serrées. Cette opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois et en faisant tourner l'écouvillon sur lui-même, sans oublier de passer l'écouvillon sur les périphéries de la boîte.

➤ Application des disques d'ATB

Les disques choisis sont posés à l'aide d'une pince flambée qui sont parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose ; deux disques doivent être éloignés au minimum de 30mm de sorte que les zones d'inhibitions ne se chevauchent pas.

➤ Incubation

Les boîtes sont ensuite portées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures en position renvers

➤ Lecture

La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition obtenu autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'une règle. L'interprétation en sensible (S) ou résistante (R) ou intermédiaire (I) est effectuée selon les critères définis par les recommandations du CLSI.

7.2 Test de synergie ou test de détection de BLSE

Il consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'Amoxicilline contenant un inhibiteur de bêta-lactamase (acide clavulanique) et les disques de céphalosporines de troisième génération (3G) (tel que le CTX). Cette image dite « bouchon de champagne ».

Technique

L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure et jeune. L'ensemencement est effectué par écouvillonnage. Le disque d'Amoxicilline (AMC) est placé au centre, à une distance de 3 cm du disque CTX. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

La production de BLSE peut se traduire par la production de synergie entre (AMC et CTX).

7.3 L'automate VITEK® 2 compact

L'automate VITEK® 2 Compact de bio-Mérieux est utilisé pour l'identification des bactéries et leur sensibilité aux antibiotiques ; avec ce dernier le **temps de réponse est réduit** par rapport aux méthodes biochimiques traditionnelles tandis que l'intégrité des données est préservée grâce à des fonctionnalités de conformité complètes.

Le système fonctionne avec des cartes identifiées par des codes-barres ; les cartes d'identification des bactéries Gram négatif (carte GN) ainsi que les cartes d'antibiogramme (carte AST) sont donc indispensables.



Figure 8 : L'automate VITEK® 2 compact

Technique

La préparation de l'inoculum est toujours réalisée manuellement. Un tube sec contenant 3 ml de solution saline est utilisé pour l'identification, et un autre pour l'antibiogramme. Les colonies isolées sont sélectionnées à l'aide d'une pipette, mises en suspension homogène dans les tubes précités, et bien mélangées avec le vortex. Cette suspension bactérienne est standardisée selon les méthodes appropriées en utilisant un densitomètre, avec la densité optique mesurée à chaque fois, devant se situer entre 0,53 et 0,60 MCF. Ensuite, 145 µl de la suspension du premier tube (tube d'identification) sont pipetés à l'aide d'une micropipette et transférés dans le deuxième tube (tube d'antibiogramme). Une carte d'identification et une autre d'antibiogramme sont placées sur la cassette, en immergeant les pailles de transfert dans les tubes contenant la suspension mère. Après chargement de la cassette dans l'instrument, la porte est fermée, et les trois étapes suivantes sont effectuées : remplissage (déplacement de la suspension vers les cartes), scellage (découpe des cartes) et enregistrement.

5 .RÉSULTATS

1. Résultats

1.1 Etat frais

L'observation microscopique a montré que:

Escherichia coli se présente sous forme de bacilles polymorphes, mobiles.

Klebsiella pneumoniae donne des bacilles immobiles courts, regroupées en amas ou en chaînes courtes.

Enterobacter cloacae sous forme de bacilles mobiles non sporulés.

Serratia marcescens sous forme des bâtonnets courts mobiles grâce à un flagelle péritriche.

Pseudomonas aeruginosa se présente sous forme d'un bacilles très mobiles grâce à un flagelle polaire généralement unique.

1.2 Coloration de Gram

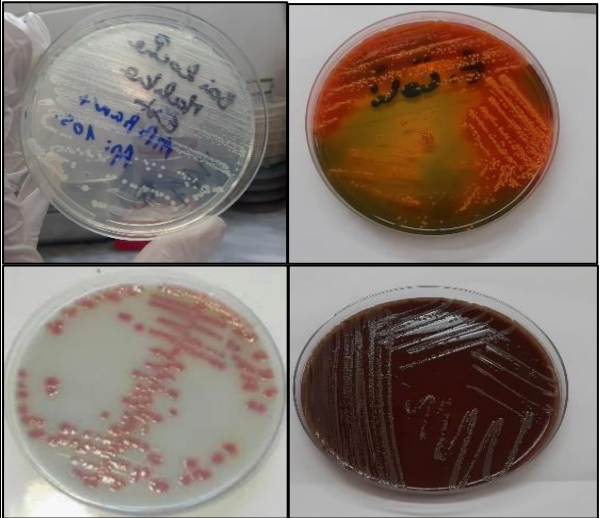
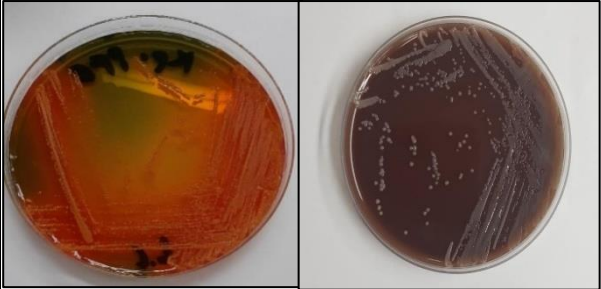

Les résultats obtenus par observation microscopique après coloration de Gram, montrent que les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* se présentent sous forme de bacilles ou diplobacilles colorées en rose. Donc ce sont des bacilles à Gram négatif (figure 9).



Figure 9 : Observation microscopique des bacilles à Gram négatif après coloration de Gram (x100).

1.3 Ensemencements

Les différents germes isolés se présentent sur les différents milieux comme suit:

<p><i>Escherichia coli</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Sur gélose nutritive : les colonies sont rondes, lisses, bombées, régulières. ➤ Sur Hektoen : les colonies apparaissent plates opaques bien rondes d'une couleur saumon avec un point ombiliqué au centre. ➤ Sur gélose au sang cuit : les colonies sont blanchâtres, rondes et non bombées ➤ Sur chromogène : les colonies rondes d'une couleur rose et surface lisse. 	 <p>1) Aspect microscopique d'E coli sur différents milieux</p>
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Sur Hektoen : les colonies apparaissent bombées et lisse d'une couleur saumon contour régulièrement ronde. ➤ Sur gélose au sang cuit : grandes colonies muqueuses visqueuses d'une couleur blanchâtre. 	 <p>2) Aspect macroscopique de <i>Klebsiella</i> sur milieu Hektoen et gélose sang cuit.</p>
<p><i>Enterobacter cloacae</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Sur Hektoen : colonies grandes humides, lisses de couleur jaune à orange en raison de fermentation de sucre présents dans le milieu. ➤ Sur gélose au sang frais : colonies lisses convexe, brillantes légèrement mucoïdes de couleur blanche ou légèrement grise. 	 <p>3) Aspect macroscopique d'Enterobacter sur milieu Hektoen et gélose sang frais.</p>

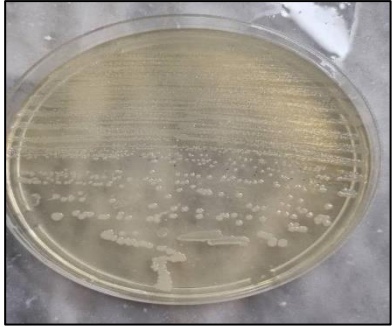

<p><i>Serratia marescens</i></p> <p>➤ Sur gélose nutritive : les colonies sont rondes circulaires à bords lisses réguliers ou légèrement ondulés présentent une surface lisse souvent de taille moyenne à grande.</p>	 <p>4) Aspect macroscopique de <i>Serratia</i> sur gélose nutritive.</p>
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>➤ Sur gélose nutritive : les colonies sont rondes à légèrement irrégulières plates à légèrement convexe du couleur bleu-vert (pyocyanine) ou jaune-vert(pyoverdine).</p>	 <p>5) Aspect macroscopique de <i>Pseudomonas</i> sur gélose nutritive.</p>

Figure 10 : Aspect macroscopique des souches isolées (photos originales,2024)

1.4 Tests biochimiques :

Les caractères biochimiques obtenus sont :

Oxydase + pour *Pseudomonas*

Oxydase – pour les entérobactéries



Figure 11:Réaction positive de *Pseudomonas aeruginosa* à l’oxydase (photo originale,2024).

Toutes les souches testées ont une catalase positive (+).

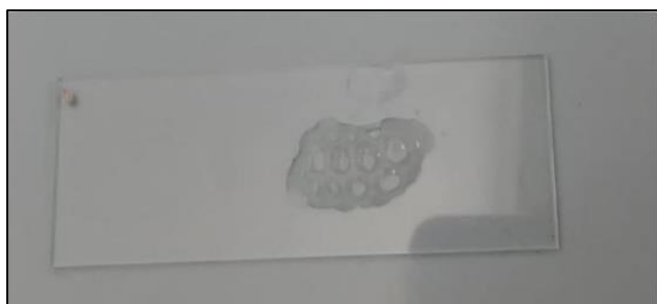


Figure 12 : Réaction positive des entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* à la catalase (photo originale,2024).

1.5 Résultats de la galerieAPI20E

➤ *Escherichia coli*

La lecture de la galerie Api 20Ea permet d’obtenir les résultats illustrés dans la figure et le tableau ci-dessous



Figure 13:Résultats de l’identification biochimiques de *E.coli* (photo originale,2024)

Tableau IV: Lecture de la galerie biochimique de Api20E de *E.coli*

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

➤ *Klebsiella pneumoniae*

La lecture de la galerie Api 20E à permet d’obtenir les résultats illustrés dans figure et le tableau ci-dessous

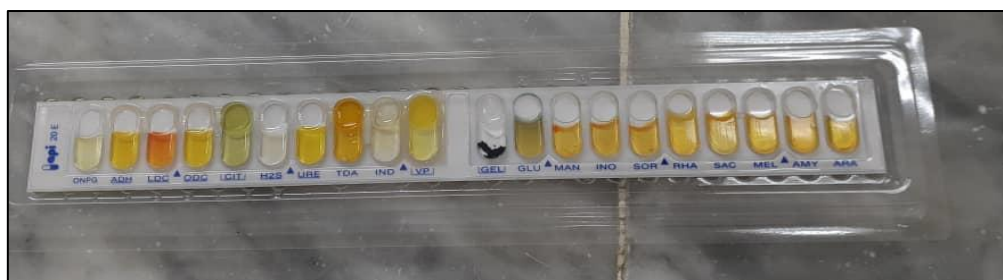


Figure 14 : Résultats de l'identification biochimiques de *K.pneumoniae* (photo originale,2024).

Tableau V : lecture de la galerie biochimique de Api20E de *K. pneumoniae*

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

➤ *Enterobacter cloacae*

La lecture de la galerie Api 20E à permet d'obtenir les résultats illustrés dans la figure et le tableau ci-dessous



Figure 15: Résultats d'identification biochimique d'*Enterobacter cloacae* (photo originale,2024).

Tableau VI: Lecture de la galerie biochimique de Api20E d'*Enterobacter cloacae*

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

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

La lecture de la galerie Api 20^E a montré les résultats illustrés dans la figure et le tableau ci-dessous



Figure 16: Résultats d’identification biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa* (photo original,2024).

Tableau VII: Lecture de la galerie biochimique Api20E de *Pseudomonas aeruginosa*.

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

L’automate VITEK

Dans le cas d’automate une fiche des résultats est automatiquement affichée puis imprimée (voir annexe 5).

2. Répartition des isolats

Notre étude a porté sur 244 prélèvements positifs dont 143 souches d’*Escherichia coli* (58,61%),48 souches de *Klebsiella pneumoniae* (19,67%),13 souches d’*Enterobacter cloacae* (5,33%), 4 souches de *Serratia marcescens* (1,64%) et 36 souches de *Pseudomonas aeruginosa* (14,75%).

2.1 La répartition des germes selon la nature de prélèvement

La répartition des 244 isolats d’Entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* selon la nature du prélèvement a révélé une prédominance d’*E coli* dans les prélèvements urinaires (ECBU) avec un pourcentage de (46,72%) suivi de *K pneumoniae* (14,34%) , tandis que d’autres souches telle que *Pseudomonas aeruginosa* sont plus répandues dans le pus (8,20%), De faibles pourcentages voire nuls ont été observés pour les souches isolées à partir de prélèvements vaginaux et de coprologie (figure 17).

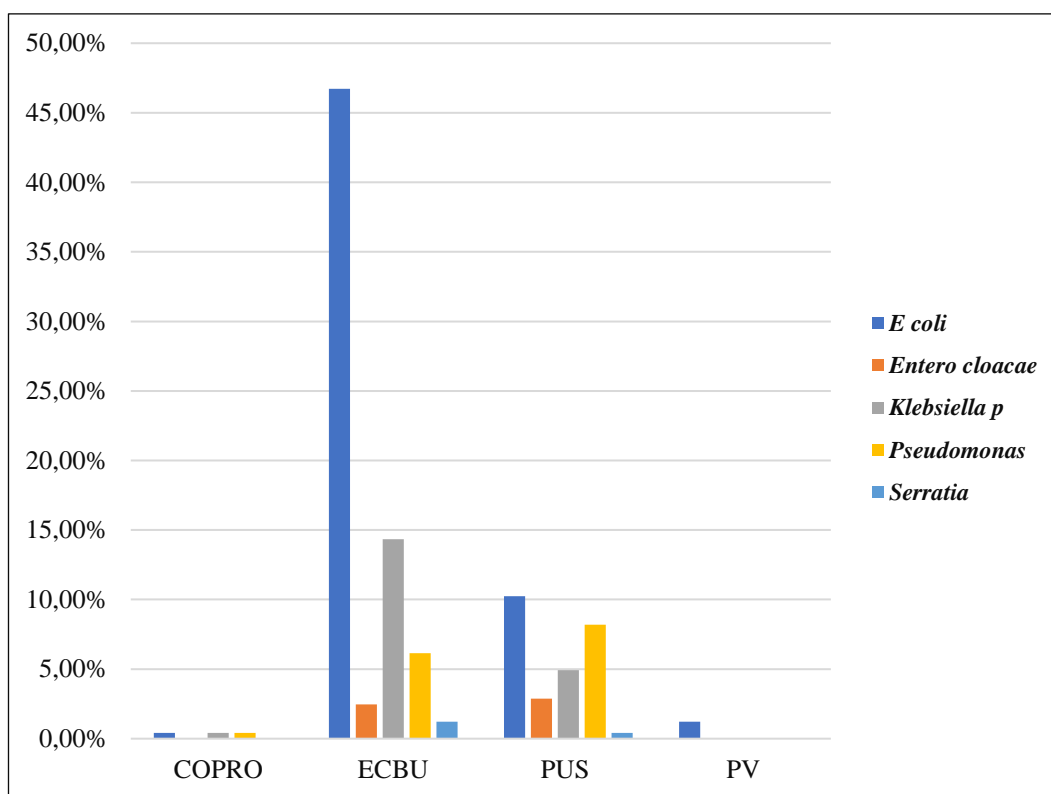


Figure 17: Répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement.

2.2 La répartition des souches selon les services

Les résultats ont révélé une variation significative dans la répartition des souches bactérienne selon les différents services hospitaliers. *E. coli* apparaît comme le germe le plus fréquent notamment dans les services de pédiatrie (PU PED) (14,75%), de médecine (PU MED) (12,30%) dans les services externes (EXT) (11,89%), D'autres germes, comme *K pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* sont également présents de manière significative, surtout dans les services d'urgence chirurgicales (PU CHR) (5,33% / 6,15%) et de médecine, bien que leur fréquence soit inférieure à celle d'*E. coli*. Les germes *Enterobacter cloacae* et *S. marcescens* sont aussi représentés, mais leur occurrence est plus modérée (figure 18).

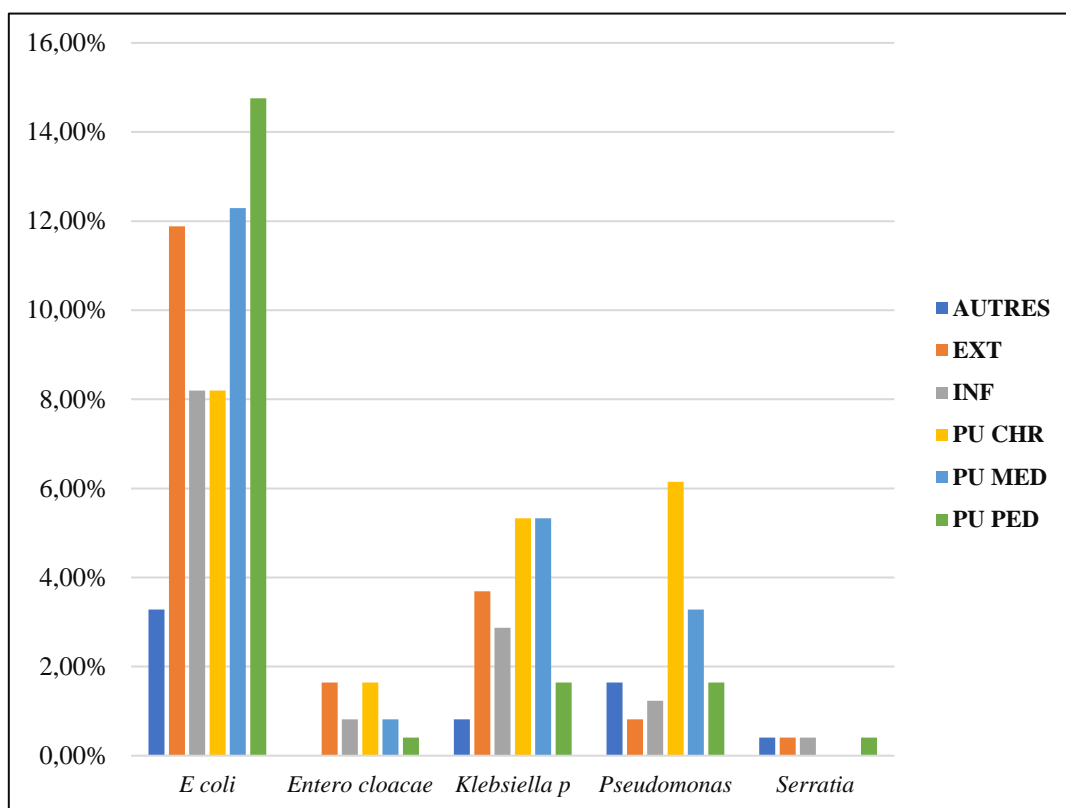


Figure 18 : Répartition des souches isolées selon les services.

2.3 La répartition des germes selon le sexe

La répartition des souches selon le sexe montre que les femmes représentent le taux d'infection le plus élevé pour les trois souches : *E coli* (41,39%), *K pneumoniae* (11,89%) et *S. marcescens* (1,23%) par rapport aux hommes (17,21% / 7,79% / 0,41%). A l'inverse des autres souches le pourcentage des hommes est plus élevé chez *Pseudomonas aeruginosa* (9,43%) et *E cloacae* (3,28%) avec des pourcentages inférieurs chez les femmes (2,05% / 5,33%) (figure 19).

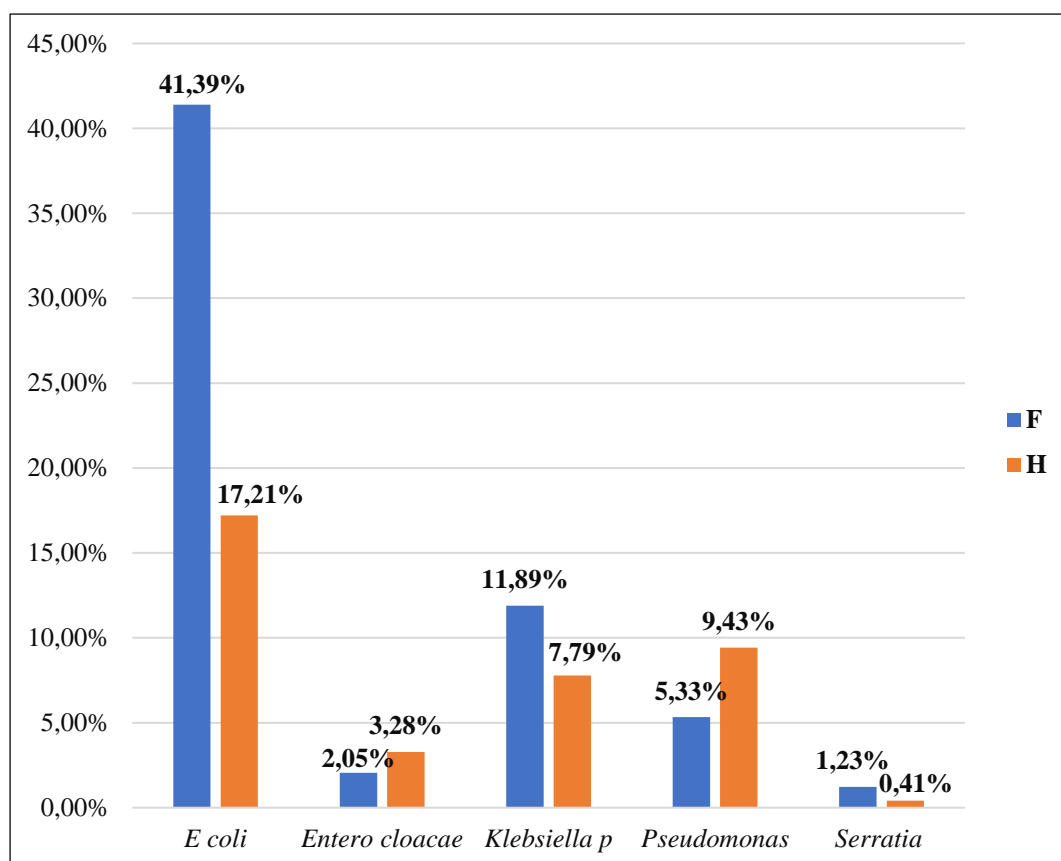


Figure 19: Répartition des souches isolées selon le sexe.

2.4 La répartition des germes selon l'âge

L'histogramme ci-dessous représente la répartition des souches bactériennes selon l'âge.

Une variation a été marquée entre les deux catégories de sorte que la fréquence d'isolement des bactéries chez les adultes est plus importante avec un pourcentage élevé infecté par *E coli* (40,98%), suivi de *K pneumoniae* (17,21%), *Pseudomonas aeruginosa* (11,48%), *E cloacae* (4,92%) et *S.marcescens* (1,23%).

Par contre chez les enfants de faibles taux d'infection se manifestent où le plus important apparaît à 17,62% par *E coli* suivi de *Pseudomonas aeruginosa* (3,28%), *K pneumoniae* (2,46%) et (0,41) pour chacune d'*E cloacae* et *S. marcescens*.

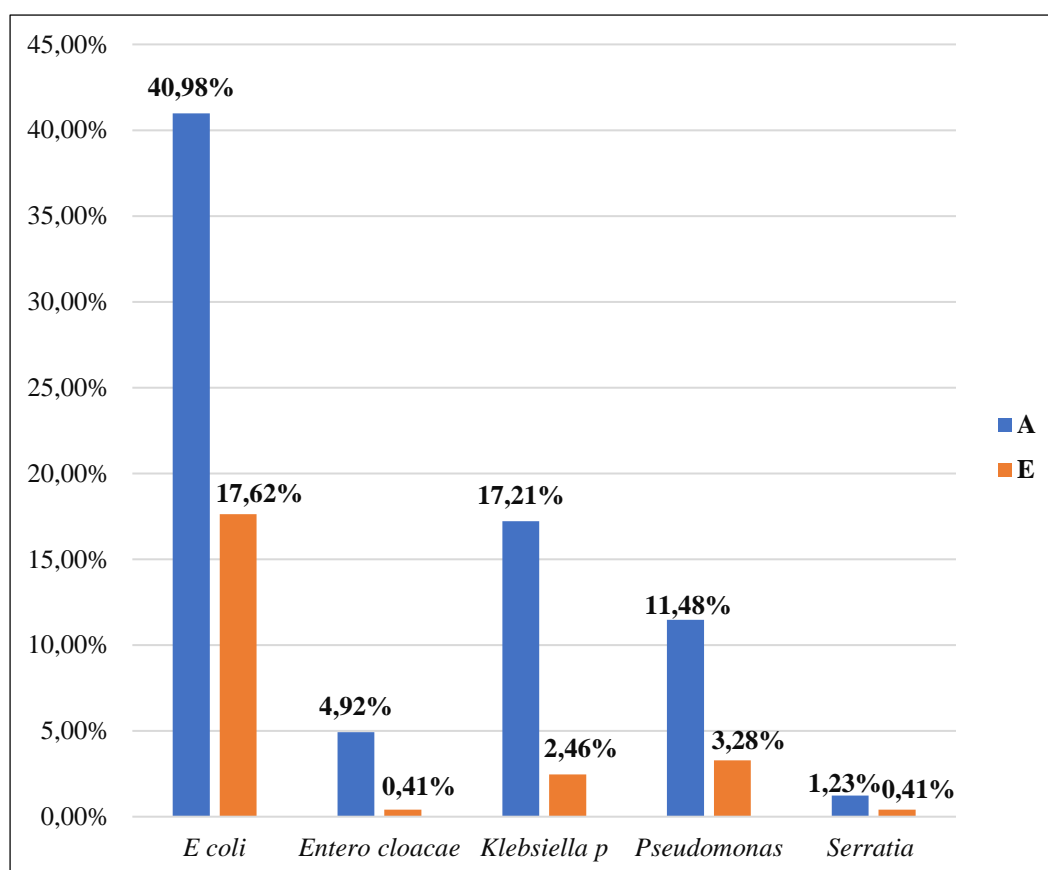


Figure 20 : Répartition des souches isolées selon l'âge.

2.5 La répartition selon le type de la résistance à l'antibiotique

L'Imipénème

L'histogramme illustre la résistance et la sensibilité des bactéries à l'Imipénème (figure 21). Selon l'histogramme *E. coli* se démarque par une sensibilité élevée (41,98%) et une faible résistance (1,65%) par apport, à *K pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* (5,76%), bien que leurs sensibilité est de (11,11% / 8,23% respectivement).

En revanche, *S.marcescens* présente une sensibilité très faible à (1,65%) mais aucune résistance n'a été observée, tandis que *E.cloacae* montre une sensibilité modérée (4,94%) et une résistance très faible (0,41%).

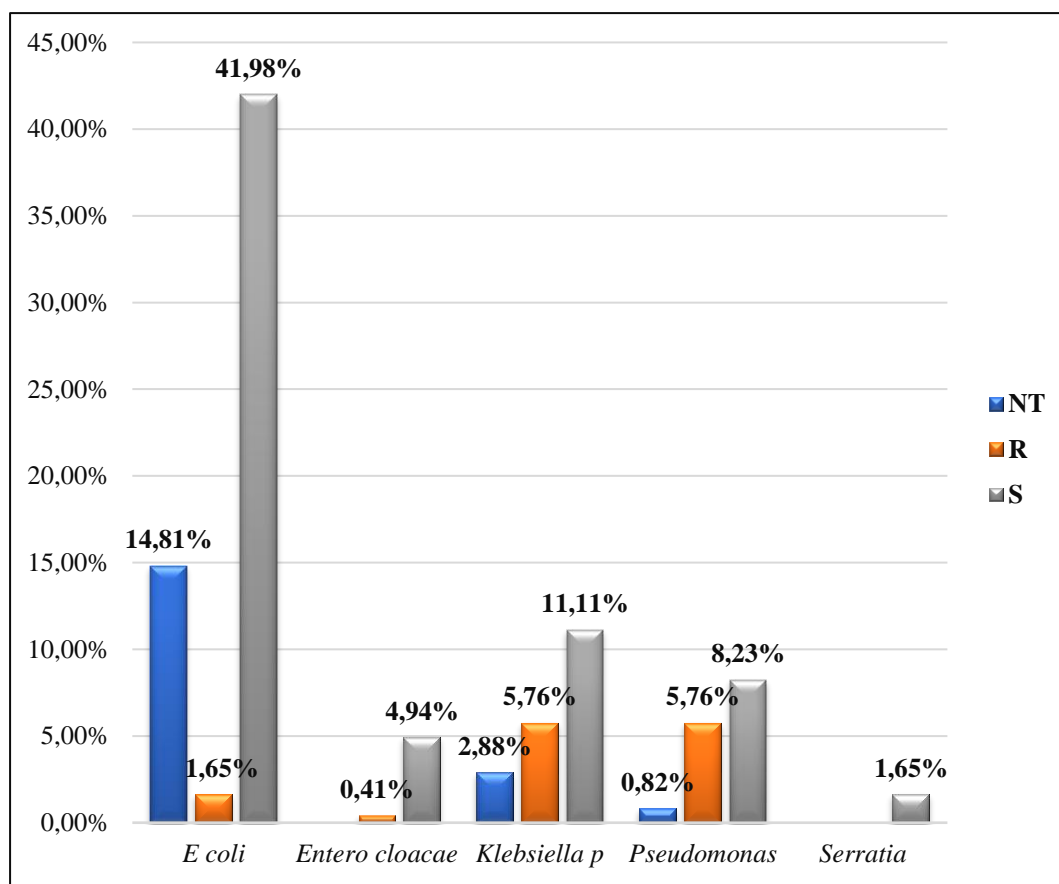


Figure 21 : Pourcentage de résistance et de sensibilités des souches isolées à l’Imipénème
R : souches résistantes ; **S** : souches sensibles ; **NT** : souches non testées à l’antibiotique

Ertapénème

L’histogramme mis en évidence la sensibilité et la résistance de différentes souches bactérienne à l’Ertapénème (figure 22).

E coli présente une sensibilité plus élevée avec (29,34%), et un faible taux de résistance de (0,83%). A l’inverse , *K pneumoniae* affiche une résistance plus marquée de (2,89%) et une sensibilité plus faible (6,20%), *E.cloacae* montre une sensibilité de (1,24%) et aucune résistance. Les souches *Pseudomonas aeruginosa* et *S. marcescens* montrent toutes les deux une absence de résistance et de sensibilité.

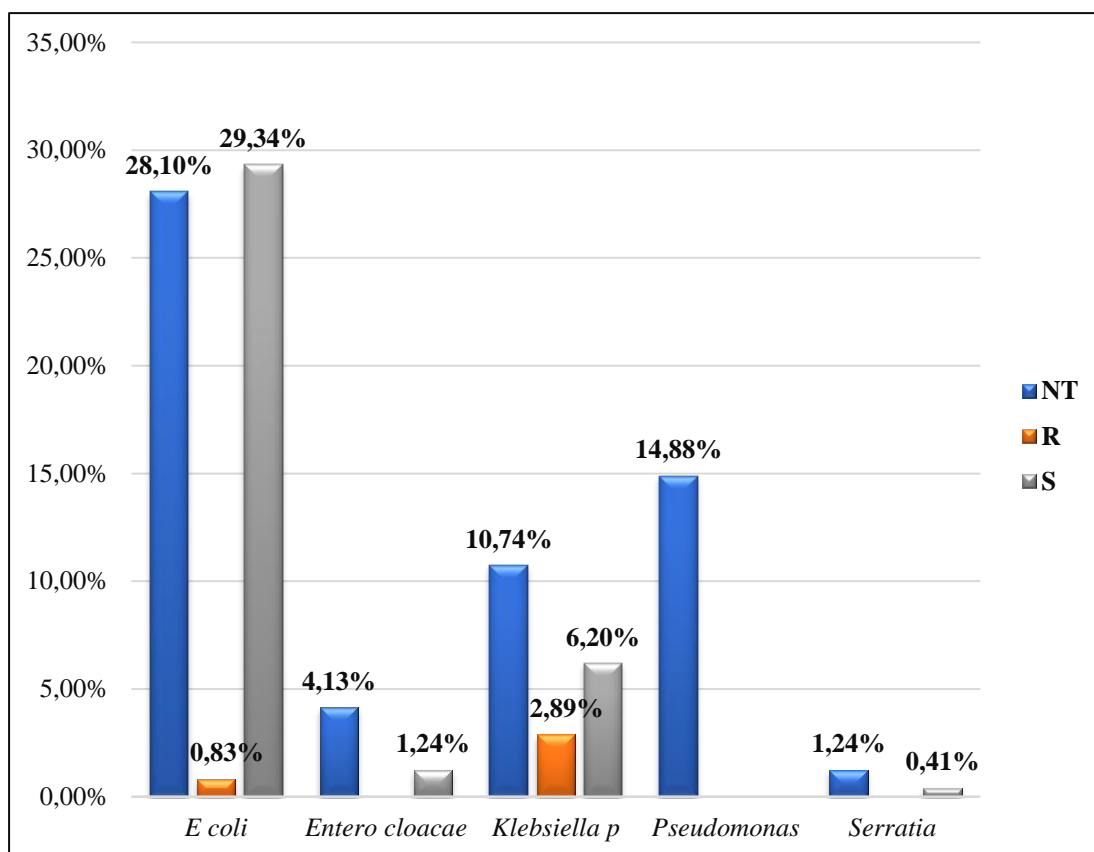


Figure 22 : Pourcentages de résistance et de sensibilité des souches isolées à l'Ertapénème.

R : souches résistantes ; **S** : souches sensibles ; **NT** : souches non testées à l'antibiotique

2.6 La répartition selon le sexe

Pour l'Imipénème l'histogramme ci-dessous représente la résistance des différentes bactéries à l'Imipénème selon le sexe. La résistance à *E. coli* est plus élevée chez les femmes (1,36%) que chez les hommes (0,43%). Cette tendance s'inverse pour *Pseudomonas aeruginosa*, où la résistance chez les hommes atteint (4,52%), bien plus que celle chez les femmes à (1,23%). Pour *K. pneumoniae*, les femmes montrent également une résistance plus élevée (3,78%) que les hommes (2,05%). Les autres bactéries, telles que *S. marcescens* et *E. cloacae* présentent des taux de résistance très faibles, voire nuls pour les deux sexes.

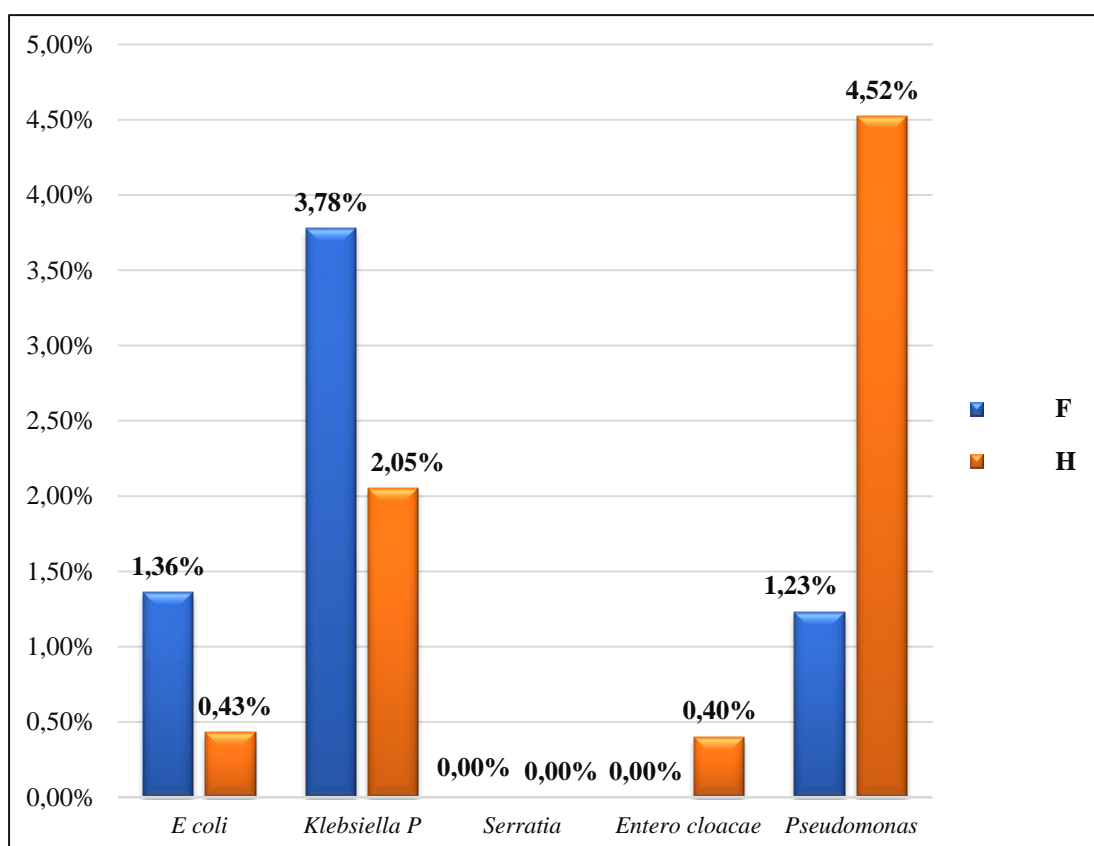


Figure 23: Répartition de résistance des souches isolées à l'Imipénème selon le sexe.

Ertapénème

Une variation entre la résistance chez les femmes et les hommes est très évidente notamment pour *K pneumoniae*. Les femmes présentent une résistance beaucoup plus élevée (2,16%) que les hommes (0,86%). Chez *E. coli*, la résistance est légèrement plus élevée chez les femmes (0,51%) par rapport aux hommes (0,44%) et aucune résistance n'est notée pour *S. marcescens*, *E. cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'histogramme compare la répartition de différentes bactéries selon le sexe en fonction de leur résistance à l'Ertapénème (figure 24)

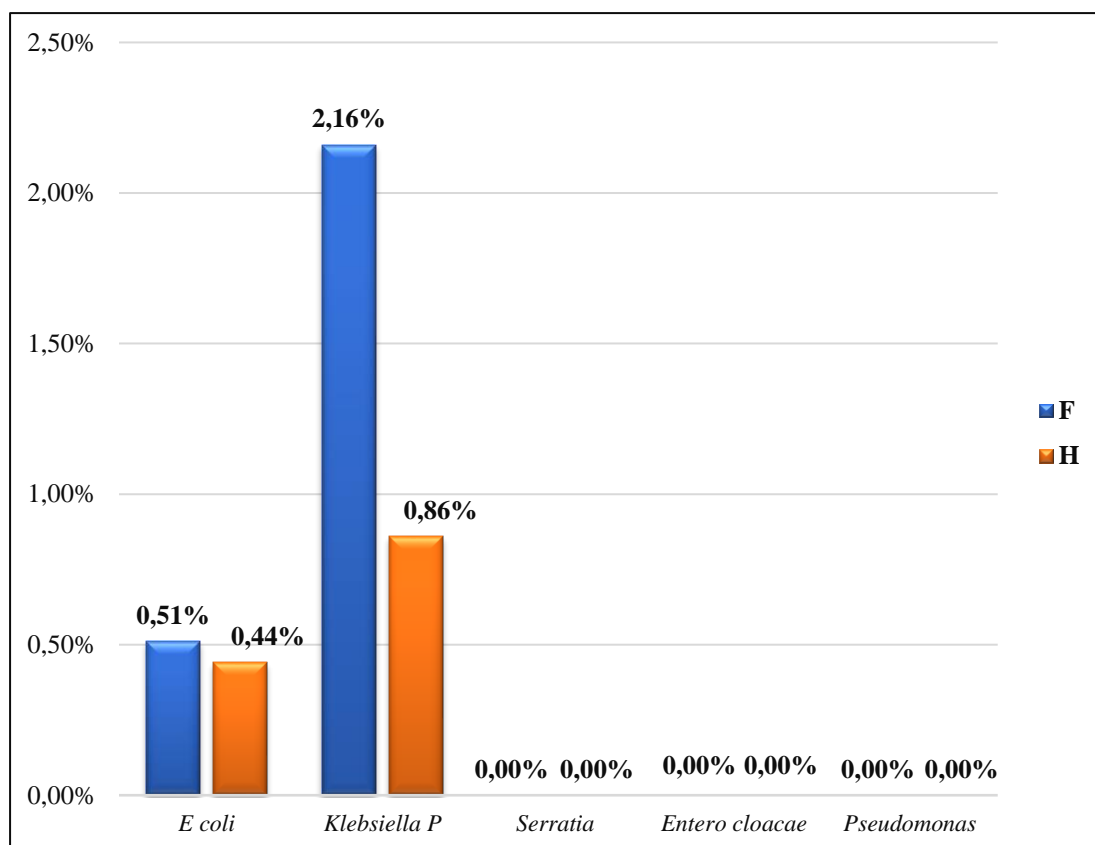


Figure 24 : Répartition de résistance des souches isolées à l'Ertapénème selon le sexe.

2.7 La répartition selon l'âge

Imipénème

Nos résultats montrent que la résistance des différentes espèces à l'Imipénème chez les adultes et les enfants (figure 25).

Un décalage entre ces deux caractères est présent, où le pourcentage chez les adultes est souvent plus important que celui des enfants.

La résistance est plus élevée pour les adultes infectés par *E.coli* avec (1,36%), par rapport aux enfants qui présentent une résistance de (0,43%). De même, pour *K.pneumoniae*, les adultes ont une résistance beaucoup plus élevée (5,43%), tandis que les enfants elle ne représente que(0,41%). En ce qui concerne *Pseudomonas aeruginosa*, la résistance des adultes est également plus élevée (4,54%) par rapport aux enfants (1,22%).

Aucune résistance n'a été observée pour *S. marcescens* et *E. cloacae* dans les deux groupes d'âge.

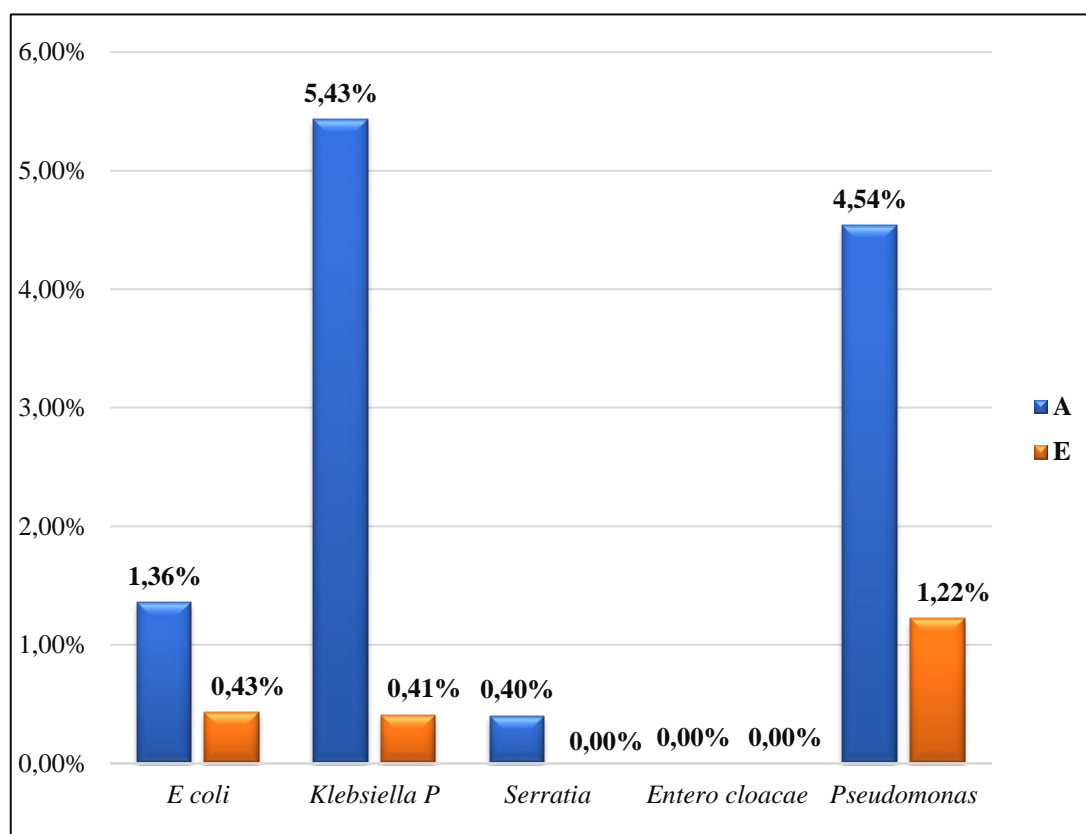


Figure 25: Répartition de résistance des souches isolées à l’Imipénème selon l’âge.

Ertapénème

L’histogramme ci-dessous illustre la résistance des différentes bactéries à l’Ertapénème selon l’âge. Chez *E coli*, les adultes représentent (1,01%) des résistances tandis que les enfants n’ont aucune résistance. Pour *K pneumoniae*, la résistance est également plus élevée chez les adultes (2,28%) que chez les enfants (0,82%), alors qu’aucune résistance n’a été observée pour *S. marcescens*, *E cloacae*, et *Pseudomonas aeruginosa* dans les deux groupes d’âge.

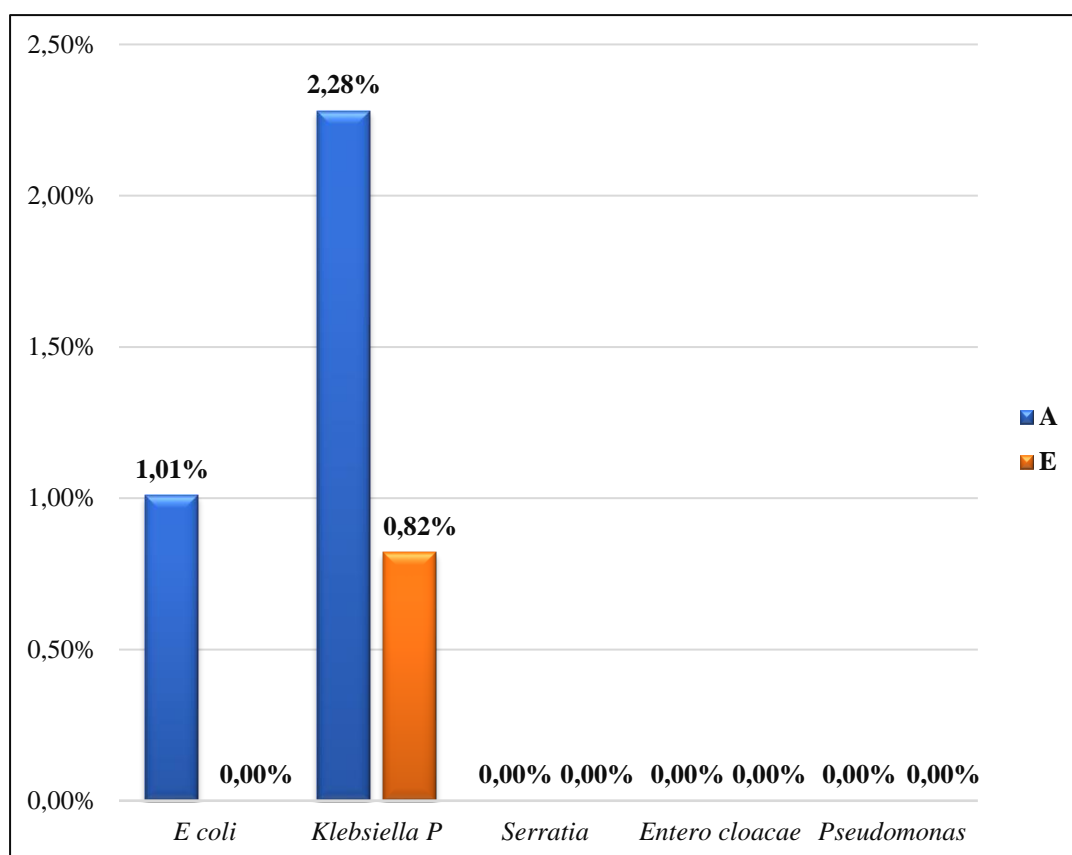


Figure 26 : Répartition de résistance des souches isolées à l'Ertapénème selon l'âge

NB : Aucun résultat BLSE+ retrouvée durant la période effectuée de stage

6. DISCUSSION

Discussion

La distribution des espèces isolées en fonction des sites de prélèvement révèle que la majorité des souches à Gram négatif notamment les entérobactéries provenait des urines, suivi du pus, puis par les autres prélèvements. Cependant, la fréquence des infections urinaires causées par *E. coli* représente un pourcentage élevé (46,37%) par rapport aux infections causées par d'autres germes ce qui est similaire aux résultats rapportés par ZRARDI (2020). Cela pourrait s'expliquer par le fait que cette espèce est la plus dominante de la flore intestinale et qu'elle peut migrer vers l'intestin puis vers l'appareil urinaire. Par ailleurs, *E. coli* fait partie des coliformes fécaux, donc une mauvaise hygiène intime peut facilement provoquer l'entrée de la bactérie dans la vessie. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* prédomine dans les prélèvements de pus (8,20 %). Nos résultats sont en concordance avec ceux de BOUSSOUF et YAHIA CHERIF (2020). Cela souligne son caractère opportuniste, souvent associé aux infections cutanées et des tissus mous, en particulier chez les patients immunodéprimés ou porteurs de dispositifs médicaux.

Le service le plus atteint par les infections aux entérobactéries est celui de pédiatrie notamment par *E coli* (14,75%) suivi du service d'urgence médicale ce qui est similaire aux résultats de MOHAMMED SEGHIR et BOUSSOUM (2023). Ceci pourrait être dû au fait que les enfants, principalement les nouveaux nés, ont souvent une immunité faible par rapport aux adultes, et que le service d'urgence médicale accueille de nombreux patients présentant des facteurs de risques élevés, comme les personnes immunodéprimées. De même une prédominance de *Pseudomonas aeruginosa* a été notée dans les services d'urgences chirurgicales ; ce qui est proche de l'étude de NAILI et ELGARNI (2019). Ceci pourrait être attribué à la fréquence des procédures invasives, l'utilisation des cathéters et l'état affaibli des patients en chirurgie.

Nos résultats montrent que les femmes représentent le taux d'infections le plus élevé par les entérobactéries, ce qui se rapproche des résultats de MADDI et MENASRA (2022). Cette prédominance peut être expliquée par l'anatomie de l'appareil urinaire féminin. La grossesse est aussi un facteur favorisant l'infection car la compression de l'utérus entraîne une dilatation voire une certaine obstruction des uretères, de même pour la ménopause et le manque d'hygiène.

Les travaux d'ASMARE et al.(2024) ont rapporté que les hommes les plus susceptibles de contracter des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* en raison de variations immunologiques et d'une exposition plus fréquente à des environnements à risque ce qui est en cohérence avec nos résultats et ceux de BENELMILI et SAHRAOUI (2021).

Selon la tranche d'âge les adultes sont les plus touchés par des infections à entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* que les enfants ce qui est similaire aux données rapportées par ZIDOUNE et BENBELKACEM (2020). Les causes sont résumées par plusieurs facteurs tels que les adultes souffrant de maladies chroniques comme le diabète ou les maladies cardiovasculaires, ou ceux qui ont un système immunitaire affaibli. De plus l'utilisation fréquente d'antibiotiques chez les adultes contribue également à la sélection de souches bactériennes résistantes.

L'Imipénème est un antibiotique actif sur la quasi-totalité des souches testées. Parmi les isolats d'*E coli* 103 souches présentant un taux de sensibilité très élevée (41,98%), tandis que 4 souches étaient résistantes soit une résistance de 1,65%. Nos résultats sont inférieurs à ceux de LEMDANI et al.(2022). Ceci pourrait être dû à la production des carbapénèmases par certaines souches d'*E coli* inactivant ainsi l'antibiotique.

D'autre part, les 14 souches de *K.pneumoniae* et de *Pseudomonas aeruginosa* montrent des niveaux de résistance plus élevés à l'Imipénème (5,76%) par le fait que ces bactéries connues par leurs capacité à développer des résistances multiples, notamment en acquérant et en exprimant des carbapénèmases, telle que la KPC pour *K. pneumoniae* et via des mécanismes d'efflux actifs pour *Pseudomonas aeruginosa* ou encore l'usage plus fréquent des carbapénèmes dans les traitement contre ces pathogènes. La sensibilité est relativement élevée (11,11%) pour 27 souches testées de *Klebsiella* et de 8,23% pour 20 souches testées de *Pseudomonas aeruginosa* ; ceci suggère que l'imipénème reste partiellement efficace. Nos résultats étaient également inférieurs à ceux de FATNASSI (2020) et de ELGARNI et NAILI (2019).

Une souche d'*E.cloacae* parmi l'effectifs présente une résistance de 0,41%, ce résultat est proche de celui rapporté par FATNASSI (2020), tandis que 12 souches étaient sensibles avec un taux de 4,94%. Cela montre une susceptibilité toujours en cours à l'Imipénème, ce qui en fait une option thérapeutique potentiellement efficace pour traiter les infections causées par cette espèce.

En revanche *S.marcescens* ne présente aucune résistance à l'Imipénème, ce qui similaire aux résultats de BOUZERAA et BERRIHIL (2018).

Concernant l'Ertapénème, les souches d'*E coli* isolées ont montré une résistance très faible (0,83%), tandis que 73 souches ont révélé un taux de sensibilité très élevée (29,34%).Cela exprime que l'ertapénème est généralement efficace contre les infections à *E coli* parce qu'il peut facilement pénétrer dans les bactéries Gram-négatif de se lier aux protéines liant les pénicillines (PLP), inhibant ainsi la synthèse de la paroi bactérienne. Des étude ont montré que l'ertapénème peut être efficace contre les souches d'*E coli* produisent des enzyme (BLSE)(CHOUCAIR,2018).

Sept isolats de *K pneumoniae* ont par contre présenté une résistance plus élevée (2,89%) que celle observée pour *E. coli*. Cela pourrait être dû à l'émergence de souches productrices de carbapénèmases, capables de dégrader l'antibiotique avant qu'il n'atteigne sa cible. Nos résultats étaient proches de ceux rapportés par FATNASSI (2020).

La sensibilité et la résistance très faible, voire nulle, des bactéries *S marcescens* et *E cloacae* à l'Ertapénème pourrait être attribué au nombre limité de souches disponibles dans notre étude.

Bien que l'Ertapénème soit efficace contre de nombreux pathogènes à Gram-négatif, il n'est pas actif contre *Pseudomonas aeruginosa* en raison de l'absence des mécanismes de pénétration nécessaires pour atteindre la cible intracellulaire de ce microorganisme (PATEL et al. ,2022).

Les analyses des résultats révèlent des tendances significatives concernant la résistance bactérienne à l'Imipénème, influencées par le sexe et l'âge des patients, offrant ainsi une perspective nuancée sur les facteurs contribuant à cette résistance. Les différences de résistance

entre les sexes sont notables, avec une résistance élevée d'*E. coli* chez les femmes par rapport aux hommes, potentiellement due à la fréquence accrue des infections urinaires chez les femmes. Ce qui peut conduire à l'exposition plus fréquente aux antibiotiques par conséquent une pression de sélection pour des souches résistantes. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* montre une résistance plus élevée chez les hommes contre celles des femmes possiblement liée à des comorbidités comme la maladie pulmonaire obstructive chronique. Pour *K.pneumoniae* la résistance est également plus élevée chez les femmes soulignant l'importance du sexe dans l'adaptation des stratégies thérapeutiques.

L'âge des patients est également un facteur déterminant, avec une résistance à l'imipénème plus marquée chez les adultes que chez les enfants, probablement en raison d'une plus grande exposition aux soins de santé et aux antibiotiques chez les adultes. Ces observations indiquent que la personnalisation des traitements en fonction du sexe et de l'âge est cruciale pour optimiser l'efficacité des antibiotiques et prévenir le développement de résistances, nécessitant une surveillance continue et des recherches supplémentaires pour ajuster les protocoles thérapeutiques (SMITH et al.,2023).

L'analyse des données sur la résistance à l'Ertapénème en fonction du sexe et de l'âge révèle des variations significatives dans la prévalence de la résistance parmi les différentes bactéries. Pour *K pneumoniae*, une résistance plus élevée est observée chez les femmes comparée aux hommes ainsi que chez les adultes par rapport aux enfants. Ces tendances pourraient indiquer que les femmes et les adultes sont plus exposés à des conditions ou à des traitements favorisant le développement de la résistance. Les différences pourraient découler de variations dans les pratiques cliniques, les antécédents médicaux ou les schémas de prescription d'antibiotiques. En ce qui concerne *E coli*, une résistance légèrement plus élevée est notée chez les femmes par rapport aux hommes et les adultes présentent une résistance de 1,01% tandis que les enfants n'en montrent aucune. Ces résultats suggèrent que les adultes et les femmes pourraient être d'avantage exposés à des facteurs favorisant la résistance. A l'opposé, *S. marcescens*, *E. cloacae*, et *Pseudomonas aeruginosa* ne montrent aucune résistance à l'Ertapénème dans les deux groupes d'âge ou sexes, ce qui pourrait refléter l'efficacité persistante de l'antibiotique contre ces espèces ou des caractéristiques spécifiques de ces souches. Ces observations soulignent l'importance d'examiner les facteurs de sexe et d'âge dans la résistance bactérienne pour mieux comprendre les dynamiques de résistance et optimiser les stratégies de traitement en fonction des différents groupes de patients (EL-SHAZLY et al.,2019).

L'ertapénème et l'imipénème sont des carbapénèmes, une classe d'antibiotiques de dernier recours utilisés pour traiter des infections sévères causées par des bactéries résistantes aux autres antibiotiques. En raison de leur rôle crucial, ils ne sont pas systématiquement testés sur toutes les bactéries isolées en laboratoire. Cette stratégie vise à préserver leur efficacité en limitant leur utilisation aux cas où d'autres traitements ont échoué, ou lorsque l'infection est suspectée d'être due à une souche multirésistante. Cela aide à réduire le risque de développement de résistances supplémentaires à ces antibiotiques précieux (TAMMA et al.,2021). Nonobstant cet impératif, il est néanmoins important de maintenir la vigilance par une surveillance permanente de l'efficacité de ces molécules et ce afin de maintenir leur statut de molécules de dernier recours.

CONCLUSION

Notre étude, menée au CHU de Tizi Ouzou, Nedir Mohamed, a permis d'analyser 244 prélèvements, pour mieux comprendre la distribution et la résistance des entérobactéries et de *Pseudomonas aeruginosa* aux carbapénèmes en fonction du sexe, de l'âge et des services hospitaliers.

Les résultats montrent une prédominance des infections urinaires causées par *E. coli*, en particulier chez les femmes et dans le service de pédiatrie. Cette prédominance est probablement liée à des facteurs anatomiques et physiologiques spécifiques aux femmes. *Pseudomonas aeruginosa*, a majoritairement été isolé dans les prélèvements de pus, soulignant son caractère opportuniste, surtout dans les services d'urgence chirurgicale.

Les différences de résistance observées entre les sexes, avec une résistance plus élevée chez les hommes pour *Pseudomonas aeruginosa* et chez les femmes pour *K. pneumoniae* et *E. coli*, mettent en évidence l'importance de prendre en compte ces facteurs dans les stratégies thérapeutiques.

Les antibiogrammes ont révélé une efficacité persistante des carbapénèmes sur *E. cloacae* et *S. marcescens*, bien que certaines souches aient montré des résistances préoccupantes, notamment *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résistances sont liées à des mécanismes spécifiques tels que la production de carbapénémases et des systèmes d'efflux, nécessitant une adaptation constante des traitements.

Enfin, cette étude souligne l'importance d'une surveillance continue des profils de résistance pour adapter les protocoles thérapeutiques en fonction des caractéristiques des patients et des services hospitaliers. La lutte contre la résistance bactérienne passe par une gestion rigoureuse des antibiotiques, une meilleure compréhension des dynamiques de résistance et la mise en œuvre de pratiques cliniques adaptées.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

-A-

ABDOUCHAKOUR, F., DUPONT, C., GRAU, D., AUJOULAT, F., MOURNETAS, P., MARCHANDIN, H., PARER, S., GIBERT, P., VALCARCEL, J., ET JUMAS-BILAK, E. (2015). *Pseudomonas aeruginosa* and *Achromobacter* sp. clonal selection leads to successive waves of contamination of water in dental care units. *Applied and environmental microbiology*, 81(21), 7509–7524.

ACHAB D., AKLI K., ALILOUCHE S., AMGOUD Y. (2013). L'antibiothérapie en pratique hospitalière. [Rapport de stage]. Tizi-Ouzou, Algérie : s.n., 2012-2013.

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. 232p.

AGREGÉ S., BELGUTH J., HADIJI R. (2015) .Généralités sur les Anti-infectieux, en médecine vétérinaire. Ecole Nationale de médecine vétérinaire Sidi Thabet. p13-14.

AIRES J. (2011). Les systèmes d'efflux actifs bactériens : caractérisation et modélisation pour quelles perspectives. *Bull. Acad. Vét* ; 164 (3) : 265.

ALIX CURDEL.(2023). Allergie aux β -lactamines : état des connaissances et de la prise en charge officinale en Seine-Maritime et en Eure. Sciences pharmaceutiques.

-B-

BATTRAUD PAUL.(2017).La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ! [doctorat dissertation] Université de Lille, France pp. 31-34.

BARAN, I., AKSU, N. (2016). Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant enterobacteriaceae in a tertiary-level reference hospital in turkey. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 15(1), 20.

BELBEL Z.(2014). Evaluation de la résistance aux antibiotique des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de doctorat de Université Badji Mokhtar ,Annaba, 146p.

BENELMILI, S., SAHRAOUI, R.(2021). Etude du profil bactériologique et de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de CHU de Constantine.

BLAIR, J. M., WEBBER, M. A., BAYLAY, A. J., OGBOLU, D. O., & PIDDOCK, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology*, 13(1), 42-51.

BOISSON, M., MIMOZ, O. (2018). Les nouveaux antibiotiques : qu'apportent-ils aux cliniciens? *Le praticien en anesthésie réanimation*, 22(5), 289-295.

BOUYAHYA, A., BAKRI, Y., ET-TOUYS, A., TALBAOUI, A., KHOUHLAA, A., CHARFI, S...DAKKA, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*.

BOUJEMAA, D. (2015). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. Thèse de doctorat. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid–Tlemcen. 133p.

BOUSQUET A.,MÉRENS A. (2018). « *pseudomonas aeruginosa* »résistance aux antibiotiques , lecture et interprétation de l’antibiogramme. *Biologie médicale* ;13(4)1-12.

BOUZERAA, A et BERRIHIL, H.(2018).Bactériologie des entérobactéries isolées au niveau du Service de Réanimation de l’Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine.

BUSH, K., et BRADFORD, P. A. (2016). bêta-Lactams and β -Lactamase Inhibitors : An overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* ,6(8),a025247. .

-C-

CAVALLO, J. D., FABRE, R., JEHL, F., RAPP, C., et GARRABE, E. (2004). Bêta-lactam antibiotics *EMC-Maladies infectieuses*, 1 : 129-202.

CHAKER H. (2012) . Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* a son hôte : implication des métabolites du tryptophane.

CHAIBDRAA A., MEDJELLEKH M.S., SAOULI A. et BENTAKOUK M.C. (2008). *Pseudomonas* : Expérience du Centre des Brûles d’Annaba et Revue de la Littérature. *Ann Burns Fire Disasters*.

CHARDON H. et BRUGERE H. (2014). Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes.

CHEMELLE, J. A. (2010). Étude par modélisation moléculaire de l’effet allergène des antibiotiques de la famille des β -lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon I.

CHOQUET, M. (2016). Mise en place d'un algorithme décisionnel pour la détection des entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC) au laboratoire de bactériologie du CHU Amiens-Picardie.Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne.

CLAVE, D. (2015). Fiche technique bactériologique : *Escherichia coli*. Toulouse: Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique.

CLAVE, D. (2013). Fiche technique bactériologique : *Enterobacter cloacae* Toulouse: Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique.

CLAVE D. (2011). Fiche technique bactériologie *Pseudomonas aeruginosa* centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique.

Clave, D. (2018). Fiche technique bactériologique :*Serratia marcescens*. Toulouse: Centre Toulousain pour le contrôle de qualité en Biologie clinique.

COULIBALY, D. (2022). Prescriptions des Antibiotiques dans le Service d’Accueil des Urgences du CHU Gabriel Touré (Doctoral dissertation, USTTB).

-D-

D'APOLITO D., ARENA F., CONT V., DE ANGELIS L. H., DI MENTO DI MENTO G., CARRECAA.P., CUSCINO N., RUSSELLI G., IANNOLO G., BARBERA F., PASQUA S., MONACO F., CARDINALE F., ROSSOLINI G M., CONALDI P. G., DOURADINHA B. (2020). Évaluation phénotypique et moléculaire du potentiel de virulence des isolats cliniques de *Klebsiella pneumoniae* ST392 producteurs de KPC-3. *Recherche microbiologique* 240, 26551.

DABAJ, C. (2021). Place de la tigécycline dans le traitement des infections à bactéries multirésistantes.

DAVIN-REGLI, A., LAVIGNE, J. P., et PAGES, J. M. (2019). *Enterobacter* spp. : mise à jour sur la taxonomie, les aspects cliniques et l'émergence de la résistance aux antimicrobiens. Dans *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 32, numéro 4). Société américaine de microbiologie.

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

DENIS,F, POLY,M.C, MARTIN ,C, BINGEN E, QUENTIN R .In *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. 2007, Edition MASSON ,295.

DENIS, F., PLOY, M. C., POYART, C., CATTOIR, V., ET MARTIN, C. (2016). *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Masson.

DELARRAS C.(2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Tec & Doc Lavoisier ; 476.

DORTET, L., POIREL, L., et NORDMANN, P. (2013). Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Feuillets de biologie*, 312, 1-13.

-E-

EL KHOURY J. (2019). Etude de la résistance aux Bêta-lactamines chez *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* par des approches omique . Thèse de doctorat en Microbiologie-Immunologie, Canada, 224p.

ELGARNI, R et NAILI, N.(2019). Evaluation de la résistance aux B-lactamines des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* ,isolées à l'hôpital El-Hakim Saadan-Biskra.

EL SHAZLY,M. et al.(2019). Sex and age as determinants of carbapenem resistance in Gram-negative bacteria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* , 18,237-243.

-F-

FATNASSI,A.(2020). L'étude de la résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées de différents prélèvements pathologiques à l'hôpital El-Hakim Saâdan-Biskra.

FIGUEIREDO,S.(17 Octobre 2011) .*Acinetobacter* spp Et réservoir de gènes de carbapénémase, thèse de doctorat université paris-sud. Pages 5-10.

FELIPE F.C., LUIS M.M., ALVARO P. (2019).Évolution de la resistance aux antimicrobiens dans les isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* produisant des infections invasives dans le sud de l'Espagne . *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* ,38 (4) :150-154.

FRENEY J., RENAUD F., LECLERCQ R., RIEGEL P. (2007).Collectif. Précis de bactériologie clinique. 2ème édition. Paris : Editions Eska. p 45.

-G-

GANGOUE PIEBOJI, J. (2007). Caractérisation des Bêta-Lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de Doctorat en Biochimie. Centre d'ingénierie des protéines. Université de Liège. Belgique. 2007. 127 p.

GADOU, V. (2019).Epidémiologie moléculaire des Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan. Cote d'ivoire. Thèse de Doctorat : Biologie fonctionnelle et Moléculaire. Abidjan. Cote d'ivoire : Université Félix Houphouët Boigny, 218p.

GAUZIT, R., PEAN, Y., ALFANDARI, S., BRU, J. P., BEDOS, J. P., RABAUD, C., & ROBERT, J. (2012). Utilisation des carbapénèmes dans les établissements de santé en 2011. Journées Nationales d'Infectiologie, Tours, 14-15.

GRALL N, ANDREMONT A et ARMAND-LEFEVER L. (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? Journal des Anti-infectieux. 16 : 16

-H-

HALAT, D. H., SARKIS, D. K., MOUBARECH, C. A. (2016). Bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes : l'état de l'art. L'état de la technique. Dans Résistance aux antibiotiques : mécanismes et nouvelles approches antimicrobiennes (pp. 93–119). Elsevier Inc.

HINCKY-VITRAT VIRGINIE. (2008). Les céphalosporines de 3ième et 4ième générations. Service de Maladies infectieuses et Tropicales., CHU Grenoble.

HUFNAGEL, D. A., DEPAS, W. H. et CHAPMAN, M. R. (2015). La biologie de la matrice extracellulaire d'*Escherichia coli*. Spectre de la microbiologie, 3(3), 10.1128/microbiolspec.MB-00142014.

HUEMER, M., MAIRPADY SHAMBAT, S., BRUGGER, S. D., et ZINKERNAGEL, A. S. (2020). Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO reports*, 21(12), e51034.

-J-

JEAN F, FRANÇOIS R, ROLAND L, PHILIPPE R.(2018). Bactériologie clinique.3ème édition. ESKA / Lacassagne,1744 p.

JOLY, B., REYNAUD, A. (2004). Entérobactéries: systématique et méthodes de diagnostic. Feuilles de biologie, 69-69.

JULIE. B. (2014). Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, démarche d'accompagnement dans sept élevages, science vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort, 2014, p11.

-K-

KANSAYE, H.(2020). Phénotypes de résistance aux bêtalactamines des souches d'entérobactéries isolées de pus, d'hémoculture et de selles au CHU du point G (USTTB).

KHAYAR Y., (2011). Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'Amoxiciline –Acide clavulanique l'imipénème et l'ertapénème. Thèse de doctorat. Pharmacie. Université Mohammed V. Rabat page 56 60 61 62.

-L-

LARRY,M., BUSH,M.D., MARIA,T., PEREZ,M.D.(2018).Infections par Klebsiella ,Enterobacter, et Serratia.

LARPENT JP. (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Les principaux groupes bactériens. TEC & DOC. 280 p.

LE QUELLEC, F. (2015). Bon usage des carbapénèmes: mise en place d'une évaluation des pratiques professionnelles comparant deux années de prescriptions.

LEMDANI , A., BENSALAM, R., BOUCHAREB L.(2022). Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogène. Université Mantouri Constantine.

LOZNIIEWSKI A., RABAUD C. (Juillet 2010). Nancy. résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. CCLIN Sud-Est.1 :1-4.

LUPO, V. (2018). Origine et évolution des bêta-lactamases de classe D. Université de Liège.

-M-

MARTIN, R.M., BACHMAN, M.A. (2018). Colonisation, infection et génome accessoire de Klebsiella pneumoniae. Les frontières de la microbiologie cellulaire et infectieuse, 08: 1-15.

MAHLEN SD. (2011). Infections à Serratia : des expériences militaires à la pratique actuelle. Clin Microbiol Rev 24 : 755-79.

MAGALHÃES, B., VALOT, B., ABDELBAR, M. M. H., PROD'HOM, G., GREUB, G., SENN, L., & BLANC, D. S. (2020). Combining Standard Molecular Typing and Whole Genome Sequencing to Investigate Pseudomonas aeruginosa Epidemiology in Intensive Care Units. Frontiers in public health, 8, 3.

MADDI S., MENASRA L.(2022). Les infections à entérobactéries et leurs antibiorésistances au niveau de l'EPH d'El Khroub , Constantine.

MEZZATESTA, M.L., GONA, F., STEFANI, S .(2012). Complexe Enterobacter cloacae : impact clinique et résistance émergente aux antibiotiques. Microbiol futur, 7. (7), 890.

MEHDI, S. (2008). La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassan ii de Settat. Thèse de doctorat. Université Mohammed faculté de médecine et de pharmacie. Rabat. 48-51p .

MUYLAERT A. et MAINIL J. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège.

MOHAMMED SEGHIR, M., et BOUSSOUM, L. (2023). Etude de l'antibiorésistance d'*Escherichia coli* isolé de différents types de prélèvements (urinaires, pus, hémoculture, coprologie) au niveau de CHU de Tizi-Ouzou. Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.

-N-

NORDMANN P, DORTET L et POIREL L. (2012). Résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries : c'est la tempête ! Tendances en médecine moléculaire. 18: 263–272.

-O-

OLIVEIRA, D. M. P. D., FORDE, B. M., KIDD, T. J., HARRIS, P. N. A., SCHEMBRI, M. A., BEATSON, S. A., et AL. (2020). Résistance aux antimicrobiens des agents pathogènes ESKAPE. Clin. Microbiol. Apocalypse 33.

OUBOUYAHIA, L. and NASSIK, S. (2021). Colibacillose aviaire au Maroc : Infection redoutable à double impact. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, 9(3).

OUEDRAOGO A.S, JEAN PIERRE H, BANULS A.L.(2017). Émergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteurs favorisant et évaluation de la menace. Médecine et Santé Tropicales, 147-154 p.

-P-

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

PANTEL, A. (2015). Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez *Escherichia coli* ST131.

PATEL,S.D., et al.(2022). Gender differences in the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to carbapenems : Analysis of a large cohort. Journal of antimicrobial chemotherapy ,77(12),3128-3135.

PATRICK R. MURRAY, KEN ROSENTHAL, MICHAEL A. PFALLER (2021) medical microbiology 9th Edition. Elsevier.

PAVAGEAU J. B. (2017). Etude de la résistance aux antibiotiques Bactéries à Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* : quelles solutions thérapeutiques actuelles et futures contre l'infection bactérienne de résistance .Thèse de doctorat en Pharmacie d'université Grenoble ALPES, France ,150p.

PACHORI, P., GOTHALWAL, R., AND GANDHI, P. (2019). Émergence de l'antibiorésistance *Pseudomonas aeruginosa* dans un service de réanimation ; Une revue critique. Gènes Dis. 6, 109– 119.

PANCU, D. F., SCURTU, A., MACASOI, I. G., MARTI, D., MIOC, M., SOICA, C., CORICOVAC, D., HORHAT, D., POENARU, M., AND DEHELEAN, C. (2021). Antibiotics: conventional therapy and natural compounds with antibacterial activity - pharmacotoxicological screening. Antibiotics, 10(4), 401.

PARKER, N., SCHNEEGURT, M., THI TU, A.H.,LISTER, P., et FORSTER, B. (2016). Microbiologie.

PRESCOTT, L.M ; WILLEY, J.M ; SHERWOOD, L.M et WOOLVERTON, C.J. (2018). Microbiologie de Prescott : 5^{ème} édition. Boeck supérieur. 198-530 p.

-R-

ROSSIGNOL G. (2007). Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche de *Pseudomonas fluorescens*: activité hémolytique et variation phénotypique. Thèse de doctorat d'état, Université Rouen, 266 p.

RODRIGUEZ-VILLALOBOS H, STRUELENS M.-J. (2006). Résistance bactérienne par β lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation* 15: 205-213.

RUPPÉ, E. (2010). Épidémiologie des β -lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Doi*, 12(1), 3-16p.

-S-

SENHADJI I. (2019). Cours de pharmacologie. Les antibiotiques : Généralités. Faculté de médecine. Université Oran 1. 38p.

SHIFA BEGUM, TOFA BEGUM, NAZIZA RAHMAN, and RUHUL A. KHAN. (2021). A review of antibiotic resistance and ways to tackle antimicrobial resistance. *CGM Biological and Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 087097.

SMITH, A.B., et al.(2023).Sex-based differences in antimicrobial resistance and susceptibility patterns among common pathogens : A comprehensive review.*Journal of clinical Microbiology* 61(7),e01459-22.

SOLBI S. (2013).Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilité aux ATB. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie: pharmacie .Rabat : Université Mohammed 5 –souissi- . p6-11-12-13.

SQUEGLIA F., MACIEJEWSKA B., ŁATKA A., RUGGIERO A., BRIERS Y., KAWA Z.D., BERISIO R.(2020). Études structurelles et fonctionnelles d'un pic de queue de capsule de phage dépolymérase de *Klebsiella* : aperçus mécanistes de la dégradation capsulaire. *Structure* 28, 613–624

-T-

TANI, Z. B. A.-K., ARLET, G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à gram négatif en Algérie. *Pathologie biologique*, 62(3), 169-178.

TAMMA, P. D., AITKEN, S. L., BONOMO, R. A., MATHERS, A. J., VAN DUIN, D., et CLANCY, C. J. (2022). Infectious Diseases Society of America guidance on the treatment of AmpC β -lactamase-producing Enterobacterales, carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *Clinical infectious diseases*, 74(12), 2089-2114.

THUALFAKAR HAYDER HASAN, RAAD A. AL-HARMOOSH .(2020). Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Revue systématique en pharmacie*, 11 (6), 817-823.

TIDRARINE, S. (2019). Epidémiologie des entérobactéries multirésistantes productrices de carbapénèmase à l'HIT.

TOUATI, A., & MAIRI, A. (2019). Carbapenemase-producing Enterobacterales in Algeria: a systematic review. *Microbial Drug Resistance*, 26(5), 475-482.

-U-

ULLAH, H., and ALI, S. (2017). Classification of antibacterial agents and their functions. In R. N. Kumavath (ed.), *Antibacterial Agents*. InTech.

-V-

VALERIAN, L.(2018) « origine et évolution des bêta-lactamases de classe d, » département des sciences de la vie : université de liège.

VAN BAMBEKE, F., MINGEOT-LECLERCQ, M. P., GLUPCZYNSKI, Y., et TULKENS, P. M. (2017). Mechanisms of Action. *Infectious Diseases*, 1162–1180.e1.

VAUX, S., CARBONNE, A., THIOLET, J.-M., JARLIER, V., COIGNARD, B., RAISIN, C. (2011). Emergence of carbapenemase-producing enterobacteriaceae in france, 2004 to 2011. *Eurosurveillance*, 16(22), 19880.

VARAPRASAD, K., KARTHIKEYAN, C., KANIKIREDDY, V., NUÑEZ, D., SADIKU, E. R., et BRIONES, R. (2020). Nanomatériaux antibiotiques. Dans les matériaux antibiotiques dans les soins de santé, pp. 1– 10. Elsevier.

VASSEUR M.(2014). - Détermination de nouvelles modalités d'utilisation des bêtalactamines en médecine vétérinaire par des approches PK/PD en vue de la protection de la santé publique : implication de la taille de la charge bactérienne pathogène. Université de Toulouse, 220p.

VICTOIRE G . (2019). Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrice de Bêtalactamases a spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan, Côte d'ivoire : Thèse de doctorat de L'Université Félix Houphouët Boigny, Cote d'ivoire,152 p.

VILLEGAS, M. V. (2017). Espèces d'Enterobacter - Maladies infectieuses et agents antimicrobiens.

VODOVAR D, MARCADE G, RASKINE L, MALISSIN I, MEGARBANE B. (2013). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La Revue de Médecine Interne* 34(11): 687–693.

-W-

WYRES K. L., LAM M. M. C & HOLT K. E.(2020). Génomique des populations de *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiologie*, Australie.

WINN WASHINGTON, C., ALLEN, S. D., JANDA, W. M., KONEMAN, E. W., PROCOP, G. W., SCHRECKENBERGER, P. C., & WOODS, G. L. (2020). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiolgy*.7th Edition Lippincott, Williams & Wilkins.

-Y-

YU, D., BANTING, G. et NEUMANN, N. F. (2021). Un examen de la taxonomie, de la génétique et de la biologie du genre *Escherichia* et de l'espèce type *Escherichia coli*. *Revue canadienne de microbiologie*, 67(8), 553571.

-Z-

ZHANEL, G. G., WIEBE, R., DILAY, L., THOMSON, K., RUBINSTEIN, E., HOBAN, D. J., ... & KARLOWSKY, J. A. (2007). Comparative review of the carbapenems. *Drugs*, 67, 1027-1052.

ZIDOUNE, S et BENBELKACEM, Y. (2020). Etude de l'antibiorésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire. Université de Saad Dahleb Blida 1.

ZRARDI, M. (2020). Les entérobactéries : épidémiologie et résistance aux antibiotiques. Mémoire. Université des Frères Mentouri Constantine.

Sites consultés

(Anonyme, 2014)

<http://www.microbe-edu.org/etudiant/entro.html>.2014.

(Anonyme, 2006)

<https://www.actu-environnement.com/media/pdf/news-28769-usage-veterinaire-antibio.pdf>.

(Anonyme, 2014)

www.civ-viande.org

(Anonyme, 2012)

http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2012_156_2_04.pdf.

ANNEXE

Annexe 01 :matériels

1-Matériel du laboratoire

1-2.Appareillage et verreries

- Bac bunsen
- pipettes pasteur stérile
- lames et lamelles
- biotes de Pétri stériles
- écouvillons stériles jetables
- Pied à coulisse
- Pince
- Poire
- Microscope optique
- Cellule de Malassez
- Anse de platine
- Etuve
- Seringues stériles
- Jarre
- Disques d'antibiotiques
- portoir
- Api 20E
- Micropipette
- Densitomètre
- Embouts stériles
- tubes sec stériles
- VITEK

1-2.Produits et réactifs

- Eau physiologique stérile à 0,9
- Huile d'immersion
- Violet de gentiane
- Lugol

- Alcool à 90%
- Fuchsine
- Réactif Kovacs
- Réactif TDA (perchlorure de fer)
- NAOH ou KOH (VP1)
- Alpha- Naphtol (VP2)
- Réactif de catalase

1-3.Milieus de culture

- Gélose nutritive
- Milieu Hektoen
- Milieu chromogène
- Gélose au sang frais
- Gélose au sang cuit
- Milieu Chapman
- Milieu Mueller Hinton
- Bouillon BHIB
- Bouillon SFB
- Milieu Sabouraud

Annexe 02 : composition des milieu de culture**Gélose Nutritive : qsp/L**

- Extrait de viande : 1,0g.
- Extrait de levure : 2,5g.
- Peptone : 5,0g
- Chlorure de sodium : 5,0g
- Agar-agar : 15,0 g
- pH=7,0.

Gélose Mueller-Hinton : qsp/L

- Infusion de viande de bœuf : 300,0ml.
- Peptone de caséine : 17,5 g.
- Amidon de maïs : 1,5 g
- Agar : 17 ,0g.
- pH : 7 ,4.

Gélose Hektoen : qsp/L

- Protéose-peptone : 12,0 g
- Extrait de levure : Facteur de croissance 3,0 g
- Lactose : critère de différenciation 12,0 g
- Saccharose : critère de différenciation 12, 0 g
- Salicine : critère de différenciation 2,0 g
- Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H₂S 1,5 g
- Sels biliaires : inhibiteur 9,0 g
- Fuchsine acide : inhibiteur 0,1 g
- Bleu de bromothymol : indicateur de PH 0,065 g
- Chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique 5,0 g
- Thiosulfate de sodium : précurseur d'H₂S 5,0 g
- Agar 14 ,0 g
- pH= 7 ,5±0,2

Gélose au sang frais

- Infusion de cœur et de muscle 375 g
- Bothicone 10g
- Chlorure de sodium 5g
- Gélose 15g

PH=7.4

Gélose au sang cuit

- Peptone de caséine 7,5g
- Peptone de viande 7,5g
- Amidon de maïs 1g
- Phosphate dipotassique 4g
- Chlorure de sodium 5g
- Hémoglobine 10g
- Agar

PH=7.2

Gélose Chapman :qsp/L

- Peptone : 10 g
- Extrait de bœuf : 1 g
- Chlorure de sodium : 75 g
- D-mannitol : 10 g
- Rouge de phénol : 25 mg
- Agar :15 g
- PH=7,4±0,2 à 25°C

Gélose Sabouraud :qsp/L

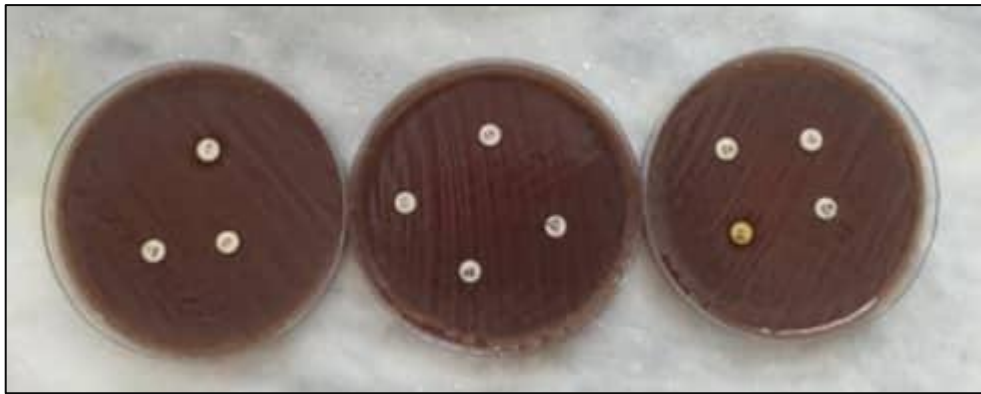
- Peptone 10 g
- Glucose massé 20 g
- Agar-agar 15 g
- Eau distillé (qsp) 1000 ml
- Vitamine et facteurs de croissance
- PH=6,0 Bouillon

BHIB :qsp/L

- Protéose-peptone 10,0g
- Infusion de cervelle de veau 12,5 g
- Infusion de cœur de bœuf 5,0 g
- Glucose 2 ,0 g
- Chlorure de sodium 5, 0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium 2,5g
- PH =7,4

Annexe 03 : les incubateurs

Annexe 04 : Les antibiogrammes de la souche *K.pneumoniae* (photo original ,2024).



Annexe 05 : Résultats imprimé de l'appareil VITEK

Numération :
Germe sélectionné : *Klebsiella pneumoniae*

Source : ecbu Prélevé :

Commentaires :

Résultats Antibiogramme	Heure de l'analyse : 9,82 heures	État : Final			
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	>= 32	R	Amikacine	32	I
Amoxicilline/acide clavulanique	>= 32	R	Gentamicine	>= 16	R
Pipéracilline/tazobactam	>= 128	R	Ciprofloxacine	>= 4	R
Céfazoline	>= 64	R	Fosfomycine	>= 256	R
Céfoxitine	>= 64	R	Nitrofurantoïne	256	R
Céfotaxime	>= 64	R	Chloramphénicol	>= 64	R
Ceftazidime	>= 64	R	Colistine		
Ertapénème	>= 8	R	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	>= 320	R
Imipénème	>= 16	R			

Résultats AES

Fiabilité : Concordant