

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique

Université Blida 1

Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et physiologie cellulaire

Option : Microbiologie



Mémoire de Fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Thème:

**Etude de l'antibiorésistance des souches d'entérobactéries
productrices de de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)
isolées à l'hôpital de Boufarik.**

Présenté par :

M^{elle} . Ould Baba ali Rabia

M^{elle} .Taibi Khalida

Soutenu le: 15/09/2019

Devant le jury composé de:

Mme. HAMAIDI.F	MCA	Présidente	USDB1
Mme. Med MAHMOUD.F	MCB	Examinatrice	USDB1
Mme. AIT SAADI.N	MAA	Promotrice	USDB1

Année universitaire:2018 / 2019



Remerciements

*Avant tout, nous remercions **Dieu** le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance.*

*Nous tenons à remercier notre promotrice **Mme AIT Saadi. N** qui nous a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils nous ont permis de réaliser ce travail.*

*Nous remercions également **Mme Med Mahmoud .F** pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Un grand merci sincère au **Dr. LASSAS** le responsable de laboratoire de l'hôpital de Boufariq, par ses aides, ses conseils, a contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail.*

Nos remerciements vont aussi à tout les membres du laboratoire de l'hôpital de Boufariq pour leurs sympathie ,leurs générosité ,leurs patience .

Merci





Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Mes chers parents, pour leurs conseils dans mes études
et pour leurs sacrifices .*

Mes sœurs et frères sans exception.

*Mon chère fiancé, qui ma donné le courage et le
soutien dont j'ai besoin*

*A ma promotrice , pour ces aides et ses connaissances qu'elle m'a
donne pour l'achèvement de ce modeste travail.
A toute ma promotion de Master Microbiologie.*

Khalida





Dédicaces

*En ce moment particulier dans ma vie,
je tiens à dédier ce modeste travail :*

*A mes chers parents,
symbole de reconnaissance
et de remerciement sur tout ce
qu'ils m'ont donné dans ma vie.*

*Puisse Allah ,le tout puissant ,vous préserve et vous accorde santé
et long vie.*

A mes chères frères ,que j'aime profondément

A toute ma famille

A ma promotrice

A toutes mes amies

Rabéa



Résumé

Les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) posent actuellement un problème majeur de santé publique, dans le monde entier, à cause de la difficulté des thérapeutiques des infections dues à ces bactéries multirésistantes.

Notre étude consiste à déterminer la prévalence des EBLSE et l'étude de leurs profils d'antibiorésistance, elle est menée au laboratoire de Bactériologie de l'EPH de Boufarik, sur une période de 3mois (Mai à Août 2019).

L'isolement, l'identification, l'antibiogramme ont été réalisés selon les méthodes usuelles, et la recherche des EBLSE a été effectuée selon le test de synergie et le test du double disque. Un total de 250 prélèvements a été recueilli de différents services (service des maladies infectieuses, pédiatrie, chirurgie générale, réanimation), 160 souches ont été isolées et identifiées des patients hospitalisés et non hospitalisés dont *E.coli* et *K.pneumoniae* étaient majoritaires. L'antibiogramme a révélé la présence de 40 souches résistantes aux C3G dont 15 souches sont des EBLSE.

Les résultats obtenus ont montré que la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE est assez importante, soit 9.3% avec une prédominance des souches *Klebsiella pneumoniae* avec 53%. La majorité des souches proviennent des prélèvements d'urines 66%, du service des maladies infectieuses 46%.

L'évaluation de la résistance vis-à-vis des antibiotiques a montré une résistance totale est obtenus avec les β -lactamines à l'exception de l'imipénème, pour les autres antibiotiques une sensibilité variable été remarquée selon les souches, où elle est élevée pour la fosfomycine et la colistine.

Mots clés : Entérobactéries, EBLSE, β -lactamines, Antibiotiques, Antibiorésistance.

Abstract

Broad-spectrum β -lactamase producing enterobacteria (EBLSE) are currently a major public health problem worldwide because of the difficulty of treating infections caused by these multidrug-resistant bacteria.

Our study consist to determine the prevalence of EBLSE and the study of their antimicrobial resistance profiles , and it's conducted at the Bacteriology laboratory of the EPH Boufarik, over a period of 3 months (May to August 2019).

The isolation, the identification, the antibiogram were carried out according to the usual methods, and the research of EBLSE was carried out according to the synergy test and the double disc test.

A total of 250 samples were collected, 160 strains were isolated and identified, the antibiogram revealed the presence of 40 strains resistant to C3G of which 15 strains are EBLSE.

The results obtained showed that the prevalence of ESBL-producing enterobacteria is quite high, is 9.3% with a predominance of *Klebsiella pneumoniae* strains with 53%, the majority of strains come from urine samples 66%, the infectious diseases department 46%.

The evaluation of resistance to antibiotics has shown that total resistance is obtained with β -lactams with the exception of imipenem, for other antibiotics, variable sensitization has been observed depending on the strains, where it is raised for fosfomycin and colistin.

Key words: Enterobacteria, EBLSE, β -lactams, Antibiotics, Antibiotic resistance

الملخص

تعد البكتيريا المعوية المنتجة للبيتاكتاماز ذات المجال الواسع مشكلة صحية عامة كبرى في جميع أنحاء العالم بسبب صعوبة معالجة الالتهابات التي تسببها هذه البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة.

تعمل دراستنا على تحديد مدى انتشار البكتيريا المعوية المنتجة للبيتاكتاماز ذات المجال الواسع ودراسة ملامح مقاومة مضادات الميكروبات لديهم.

حيث تجرى في مختبر البكتيريا في المؤسسة العمومية الاستشفائية ببوفاريك، على مدى فترة 3 أشهر (من ماي إلى أوت 2019).

تم إجراء العزل وتحديد الهوية والمضادات الحيوية وفقاً للطرق المعتادة ، وتم إجراء بحث البيتالاكتاماز ذات المجال الواسع وفقاً لاختبار التآزر واختبار القرص المزدوج.

تم جمع ما يقارب 250 عينة ، تم عزل 160 سلالة وتحديدها ، وتم الكشف بعملية اختبار الحساسية عن وجود 40 سلالة مقاومة ل منها 15 سلالة للبيتالاكتاماز ذات المجال الواسع. السيفالوسبورينات ذات الجيل الثالث

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن معدل انتشار بكتيريا الأمعاء المنتجة للبيتالاكتاماز ذات المجال الواسع مرتفع للغاية ، أي 9.3٪ مع غلبة سلالات كليسيلا الرئوية بنسبة 53٪. غالبية سلالات تأتي من عينات البول 66٪ ، وقسم الأمراض المعدية 46٪.

لقد أظهر تقييم مقاومة المضادات الحيوية أنه:

تم الحصول على المقاومة الكاملة باستخدام البيتالاكتامين باستثناء الايميبينيم ، وبالنسبة للمضادات الحيوية الأخرى ، لوحظ وجود حساسية متغيرة وفقاً للسلالات ، حيث تكون عالية بالنسبة للفوسفوميسين والكوليستين.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا الأمعاء، البيتالاكتاماز ذات المجال الواسع، البيتالاكتامين، المضادات الحيوية، مقاومة المضادات الحيوية.

Liste des abréviations

AMC: Amoxicilline - Acide clavulanique.

AmpC : Chromosomal located céphalosporinase.

ADH: Arginine Déshydrogénase.

API 20 E : Appareillage Et Procédé D'Identification.

ATM: Aztréonam.

Aw :Activity of water.

BLSE: β -lactames à spectre étendu.

BMR :Bactéries Multirésistantes.

BGN : Bacille Gram Négatif.

BGT :Bouillon Glucosé Tamponné.

CAZ : Ceftazidime.

CIT : Citrate.

CTX : Céfotaxime.

CTX-M : Cefotaximase-Munich.

CIP : Ciprofloxacine.

C3G: Céphalosporines de troisième Génération .

C4G: Céphalosporines de quatrième Génération.

EBLSE: Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu.

ECA : Enterobacterial Common Antigen.

EPH : Etablissement Public Hospitalier.

FO : Fosfomycine.

FOX : Céfoxitine.

GEL :Gélatinase.

GLU :Glucose.

H₂S :Sulfure d'hydrogène.

I :Intermédiaire.

IND :Indole.

INO :Inositol.

IPM :Imipénème.

LDC :Lysine Décarboxylase.

LPS :Lipopolysaccharides.

MAN :Mannitol.

MEL :Milébiose.

MH :Mueller-Hinton.

NA:Acide nalidixique.

ODC: Ornithine Décarboxylase.

ONPG : Orthonitrophényle-Béta-D-galactopyranoside.

OXA :Oxacillinase.

PBP : Penicillin Binding Proteins.

PLP :Protéine Liant la Pénicilline.

R :Résistante.

RHA :Rhamnose.

S :Sensible.

SAC :D-Saccharose.

SOR:D-Sorbitole.

SHV : Sulfhydryl variable.

TEM :Temoniera.

TDA:Tryptophane Désaminase.

UFC : Unité Formant colonie.

URE :Urée .

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1	Structures de quelques β -lactamines.	09
2	Mode d'action des bêta-lactamines.	10
3	Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame.	12
4	Description de l'image de synergie .	22
5	Schéma de détection de BLSE par le test du double disque.	23
6	Aspect macroscopique des colonies d' <i>E.coli</i> sur gélose nutritive.	24
7	Aspect macroscopique des Colonies d'E.coli sur milieu Héктоen.	24
8	Observation microscopique après coloration de Gram.	25
09	Répartition des souches d'entérobactéries par service.	27
10	Répartition des souches d'entérobactéries selon la nature de prélèvement.	28
11	Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des urines.	29
12	Espèces d'entérobactéries isolées au niveau de pus.	29
13	Espèces d'entérobactéries isolées au niveau de prélèvements sanguins.	30
14	Répartition des souches selon le sexe.	30
15	Répartition des souches par catégories d'âge.	31
16	Les résultats de l'antibiogramme de la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	32
17	E.coli S 03 productrice de BLSE.	32
18	E.cloacae S 01 productrice de BLSE .	32
19	E.coli S 06 productrice de BLSE.	33
20	Double disque négatif.	33
21	Double disque positif .	33
22	Taux des souches à BLSE +	34
23	Répartition de l'ensemble des entérobactéries productrices de BLSE.	34
24	Taux de résistance par nature de prélèvement.	35
25	Répartition des souches EBLSE selon le service .	36

26	Taux de résistance vis-à-vis aux β -Lactamines .	37
27	Taux de résistance vis-à-vis aux autres antibiotiques.	38

Liste des tableaux

I	caractères biochimiques de quelques entérobactéries.	05
II	Total des prélèvements recueillis au niveau de différentes services.	16
III	Répartition des souches d'entérobactéries par espèces.	26
IV	Répartition des souches d'entérobactéries par services.	26
V	Répartition des espèces d'entérobactéries selon la nature de prélèvement.	29
VI	Répartition des EBLSE selon la nature prélèvement.	35
VII	Répartition des EBLSE par service.	36

Table de matière

Introduction	01-02
---------------------------	--------------

Chapitre I :Synthèse bibliographique

I.Généralités sur Les entérobactéries.....	03
I.1. Définition	03
I.2. Taxonomie	03
I. 3. Habitat	04
I.4. Caractères bactériologiques des entérobactéries	04
I.5 .Etude des principaux entérobactéries.....	06
II. Généralités sur les antibiotiques.....	07
II.1. Définition des antibiotiques.....	07
II.2 Classification.....	07
II.3 Mode d'action des antibiotiques.....	08
III . La résistance des entérobactéries aux Béta lactamines.....	08
III.3. Définition les β-lactamines.....	09
III.3 .1Classification.....	09
IV. Mode d'action des β-lactamines.....	10
V.Mécanismes de résistance aux β-lactamines.....	11
VI.1. Définition des β-lactamases.....	12
VI.2. Mode d'action.....	12
VI.3 Classification.....	12
VII. β-lactamases à spectre étendu (BLSE).....	13
VII. 1 .Définition.....	13
VII.2. Types de BLSE.....	16
VIII .Facteurs de risque d'acquisition d'une entérobactérie productrice de β-lactamases à spectre élargi.....	14
VIII . Conséquences d'une infection à entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre élargi.....	14

Chapitre II: Matériel et méthodes

I. Durée et lieu de l'étude	16
II. Matériel.....	16
III .Méthodologie de diagnostic	16
IV. Identification bactérienne	18
V. Identification biochimique après culture	19
VI.Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »	20
VII. Tests de détection de BLSE.....	21
VII.1 . Test de synergie.....	21
VII.2 . Test du double disque.....	22

Chapitre III: Résultats et discussion

I. Identification bactérienne	24
I.3. Identification biochimique des souches.....	25
I.4. Répartition des souches par espèces.....	26
I.5. Répartition des souches par service.....	27
I.6. Répartition des souches selon la nature de prélèvement.....	28
I.7. Répartition des souches selon le sexe	30
I.8. Répartition des souches selon la tranche d'âge	31
II. Détermination du profil d'antibiorésistance.....	31
II.1. Fréquence des E-BLSE.....	34
II.2. Répartition des EBLSE par espèces.....	34
II.3. Répartition des EBLSE selon la nature des prélèvements	35
II.4. Répartition des BLSE par service	36
II.5 Profil de résistance des EBLSE aux antibiotiques	37

Introduction

Introduction

Avec la découverte de la pénicilline en 1928, Alexander Fleming fut sans aucun doute à l'origine de l'un des plus grands progrès de la médecine moderne tant l'usage des antibiotiques a sauvé d'innombrables vies depuis le dernier siècle.

Cependant, l'émergence de résistances à chacune des classes d'antibiotiques successivement découvertes au cours de ces 50 dernières années a modifié leur efficacité.

Aujourd'hui, le niveau de résistance aux antibiotiques a atteint un seuil inquiétant pour de nombreuses bactéries (**Pavageau, 2017**).

Devant l'utilisation intense des antibiotiques d'une manière incontrôlée, les entérobactéries qui constituent une très vaste famille de bacille gram négatif, ont développé plusieurs mécanismes de résistance pour contrecarrer l'action de des bêtalactamines. La majorité des entérobactéries peuvent se transformer en pathogènes opportunistes, la grande crainte des scientifiques est d'entrer dans une impasse thérapeutique où aucun antibiotique ne sera efficace contre telle infections. (**Birgy et al., 2012**).

Les hôpitaux offrent un écosystème propice à la diffusion d'agents infectieux, potentiellement épidémiogènes et à l'acquisition de résistances microbiennes. Les risques infectieux au sein des hôpitaux sont multiples (**d'Alessandro, 2012**).

L'apparition de la résistance chez les Entérobacteriaceae est un problème important qui nécessite une attention immédiate. La résistance liée à la production de β - lactamase à spectre étendu (BLSE) est un problème particulier dans le traitement des infections à entérobactéries, mais d'autres mécanismes ont également émergé, conduisant à la multirésistance et menaçant de créer des espèces pan-résistants (**Paterson, 2006**).

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) ont été décrites pour la première fois en 1983, et sont des enzymes plasmidiques, appartenant à la classe A de Ambler, qui confèrent une résistance à toutes les pénicillines, aux céphalosporines de 1ère et 2ème génération et à au moins une céphalosporine de 3/4ème génération (C3/4G) ou à l'aztréonam (**Robin et al., 2011**).

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à la résistance aux β -lactamines, des souches cliniques d'entérobactéries d'isolement courant dans hôpital, compte tenu aussi du fait que ces antibiotiques sont très fréquemment prescrits pour le traitement des infections dues à ces bactéries en absence d'antibiogramme.

Les objectifs de ce travail sont donc :

- L'isolement et l'identification des entérobactéries les plus fréquemment retrouvées dans les différents prélèvements.
- détection des souches d'entérobactéries productrices des β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) isolées des patients hospitalisés à l'Hôpital de Boufarik, et évaluer la sensibilité de ces souches aux antibiotiques.

chapitre I

synthèse bibliographique

I. Généralités sur les entérobactéries

Les entérobactéries ou (Enterobacteriaceae) constituent une famille bactérienne hétérogène très importante, qui regroupe plus d'une quarantaine de genres et de plusieurs dizaines d'espèces, le nom d'Entérobactérie fait référence aux Entérocytes (cellule intestinale), car les bactéries appartenant à cette famille sont généralement des hôtes commensaux ou pathogènes (Pilly, 2013).

I.1. Définition

Les Entérobactéries sont des bacilles Gram négatif (BGN), retrouvées partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier.

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

Se sont bacilles à Gram négatif , immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche ,se sont aéro- anaérobies facultatifs .

Elles se développant aisément sur milieu ordinaire ,elles fermentant le glucose et ne possédant pas d'oxydase ,possédant une catalase à l'exception de *Shigella dysenteriae* ;

Elles réduisant les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi les *Erwinia*) et non sporulés. (Bennani,2014).

I.2. Taxonomie

La famille comprend 130 espèces actuellement répertoriées. Les espèces les plus fréquemment isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (Khayar,2011).

I. 3.Habitat

Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires avec un habitat très large. Ce sont des hôtes normaux ou pathologiques du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux à sang chaud relativement peu rencontrée dans d'autres sites du corps.

Dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10% de la flore totale (**Guiraud, 2012**).

I.4. Caractères bactériologiques des entérobactéries

I.4.1-Caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique, sous forme de bacilles gram négatif (BGN) (2-4µm longueur/0.4-0,6 µm largeur), soit mobiles par ciliature péritriche ou immobiles, non sporulés et peuvent être capsulés (*Klebsiella*). La plupart des espèces pathogènes pour l'Homme possèdent des fimbriae ou pili communs qui sont des facteurs d'adhésion (**Terkja,2014**).

I.4.2.Caractères cultureux :

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose. Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5 - 8) et ils sont assez tolérants aux variations de la pression osmotique.

Ainsi on distingue 5 types de colonies :

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

I.4.3. Caractères biochimiques

L'identification des Enterobacteriaceae repose sur l'étude des caractères essentiellement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose etc..), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz (**Kassama et Hamadi , 2013**).

Tableau I:caractères biochimiques de quelques entérobactéries (**Kassama et Hamadi 2013**).

	<i>Escherishi a</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LAC	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+ /-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+ /-	+ /-	+	+ /-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
CIT	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mob	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

I.4.4. Caractérisation antigénique des espèces

La plupart des espèces d'entérobactéries possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunin ou ECA (Enterobacterial Common Antigen). Il existe trois catégories d'antigènes.

o **Les antigènes O** : Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistants à l'alcool ou l'acide.

o **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.

o **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 certains *Salmonelle* ou *Citrobacter* (**Khayar,2011**).

I.5. Etude des principaux entérobactéries (Bennani, 2014)**I.5.1. *Escherichia***

Hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, c'est l'espèce aérobie la plus représentée dans le tube digestif.

I.5.2. *Shigella*

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines. Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale. On ne les retrouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains. Elles sont responsables de l'historique « dysenterie bacillaire » qui décimait les armées en campagne.

I.5.3. *Klebsiella*

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés.

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

I.5.4. *Proteus-Providencia*

Au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, le groupe *Proteus-Providencia* se distingue essentiellement par les deux caractères suivants :

Présence d'un tryptophane désaminase ;

Envahissement constant de la gélose nutritive. Ce sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux, elles peuvent dans certains cas se montrer pathogènes et provoquer des infections très diverses : entérites, cystites, otites, méningites. Ces infections sont de plus en plus fréquentes.

I.5.6. *Salmonella*

Les Salmonelles présentes dans l'eau et dans diverses denrées alimentaires, sont pathogènes, soit exclusivement pour l'homme (*Salmonella Typhi*), soit exclusivement pour l'animal (*Salmonella Abortus ovis*).

Chez l'homme, elles sont responsables de la fièvre typhoïde et de gastro-entérites.

La morphologie est celle des entérobactéries. Certaines souches habituellement mobiles peuvent à l'isolement se présenter sous forme immobile.

Les colonies mesurent en général 1,5 à 3 mm après 24 heures à 37 °C et apparaissent lors de l'isolement sous forme S. (Bennani, 2014)

I.5.7. *Enterobacter*

Les *Enterobacter cloacae* sont des espèces du genre *Enterobacter* qui font partie de la famille des Enterobacteriaceae. Ils sont des bacilles à Gram négatif, anaérobies facultatifs, mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur; ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche et sont dotés de pilus de classe 1 (Paterson et al., 2005 ; Hart, 2006)

les *E. cloacae* sont des germes qui colonisent souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par antibiotiques. Ils ont été associés à des épidémies nosocomiales et sont considérés comme des pathogènes opportunistes (Pagotto et al., 2003 ; Hart, 2006) .

II .Généralités sur les antibiotiques

II.1.Définition des antibiotiques

Le terme d'**antibiose** crée par **Vuillemin** (France) en **1889** pour décrire une situation dans laquelle un micro-organisme détruit un autre (Paolozzi L., et Libert J. C., 2015). Les antibiotiques (Du grec **anti**: « contre », et **bios**: « la vie ») sont des substances élaborées par des micro-organismes (procaryotes ou eucaryotes) ou obtenues à l'heure actuelle par synthèse ou hémisynthèse et capables d'inhiber la multiplication (action bactériostatique) ou de tuer d'autres micro-organismes (action bactéricide) (Talbert et al., 2015).

II .2.Classification

Pour mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on procède à leur classification selon certains critères (Ramdani et al., 2009 ; Talbert et al., 2015) :

- Les antibiotiques ayant une même structure chimique, à l'origine de leur mécanisme d'action se classent dans une même famille.
- Au sein d'une même famille, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes .
- Au sein d'un même groupe, l'activité antibactérienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leurs propriétés pharmacologiques ou leur tolérance.
- Peuvent être aussi classés selon l'origine de la molécule : naturelle, synthétique ou semi synthétique .

II.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanisme d'action. Ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé « site d'action »: (Talbert et al., 2015).

- ❖ **La paroi:** inhibition de synthèse de la paroi bactérienne (β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine).
- ❖ **La membrane cytoplasmique:** inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines).
- ❖ **Le chromosome:** inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones).
- ❖ **Le ribosome:** inhibition de la synthèse protéique (cycline, aminosides, macrolides).

III. La résistance des entérobactéries aux Béta lactamines

III.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée (Lozniewski.A et al., 2010). Elle est permanente, stable et transmissible à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) comme la résistance des bactéries à GRAM négatif à la vancomycine est naturelle (Pierrot.S, 2015).

III.2. La résistance acquise

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée (ou parfois de nombreuses). La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (Lozniewski.A et al., 2010). Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (Lozniewski.A et al., 2010).

a) La résistance chromosomique

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique (au hasard). Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). C'est un phénomène indépendant c'est à dire l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques (Lozniewski.A et al., 2010).

b) La résistance extra chromosomique

La résistance peut provenir de l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides, de bactériophages ou de transposons. On parle de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation (**Koujane.L, 2011**).

III.3 .Définition des bêta lactamines

Les bêta lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes (**Zenati.F, 2016**).

Les β-lactamines ont une structure composée d'un noyau azétidinone qui contient la structure carbonyle lactame indispensable pour l'activité de ces molécules (**Ayad.A, 2011**).

III.3.1. La classification des β-lactamines

Les β-lactamines sont classées selon leur structure chimique et leur activité antimicrobienne en quatre familles : pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes.

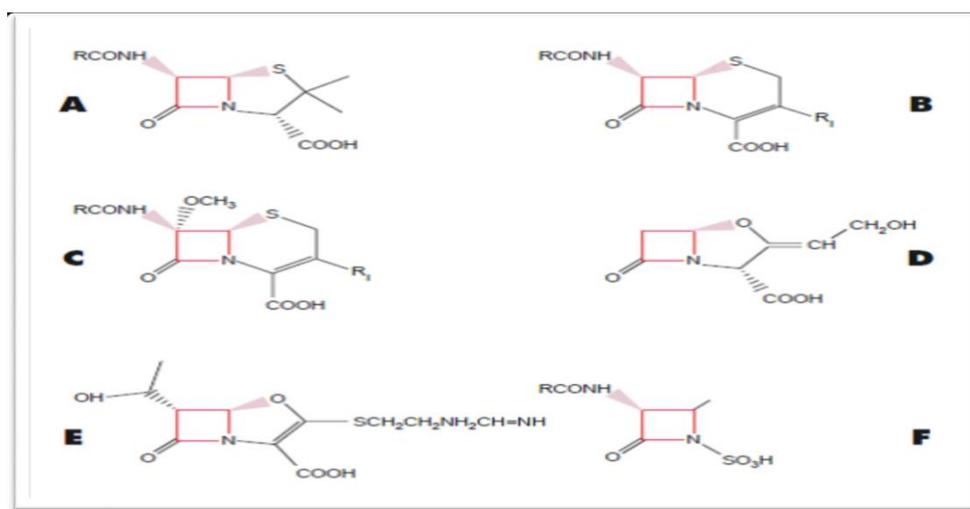


Figure 01: Structures de quelques β-lactamines (**Charlier et al .,1998**).

A: pénicillines ; B : céphalosporines; C : céphamycines ; D : acide clavulanique ; E : imipénème (carbapénème); F : monobactames

a. Les pénicillines

Il s'agit d'une vaste famille de produit ayant en commun le noyau pénème (**Cavallo et al., 2004**).

Les pénicilles sont classés en 6 groupes : Pénicilline G, pénicillines M, pénicilline A, pénicilline V, carboxy-pénicilline et uréido-pénicillines (**Laizid.A, 2012**). Sont active sur les coques et les bacilles GRAM négatif (**Marilyse.V, 2015**).

b. Les cephalosporines

Ces β -lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à GRAM négatif, les céphalosporines classées en 4 groupes selon leur date de mise sur le marché et leur spectre d'activité (Liazid.A, 2012).

c. Monobactames

Ces antibiotiques sont très actifs sur les entérobactéries. L'activité anti GRAM négatif de l'aztréonam, chef de file de cette classe, est globalement comparable à celle des céphalosporines de 3ème génération comme la ceftazidime. L'aztréonam présente une bonne stabilité vis-à-vis des β -lactamases de spectre restreint. De plus, les monobactames constituent les seules β -lactamines non hydrolysées par les métallo- β -lactamases (Merad.B, 2014).

d. Carbapénèmes

Les carbapénèmes possèdent le plus large spectre d'activité et la plus grande activité antimicrobienne contre les bactéries à GRAM positif et GRAM négatif, ils sont utilisés lors d'un traitement empirique ou dans le traitement d'infections par des bactéries à GRAM négatif résistantes aux C3G. Les carbapénèmes sont les seules β -lactamines dont l'efficacité est prouvée dans les infections graves dues aux bactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Marilyse.V, 2015).

IV. Mode d'action des β -lactamines

Les bêta lactamines sont actifs sur des bactéries en phase de croissance et agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane) par inactivation des principales enzymes impliquées dans cette construction : les PLP, protéines liant les pénicillines (Marilyse.V, 2015).

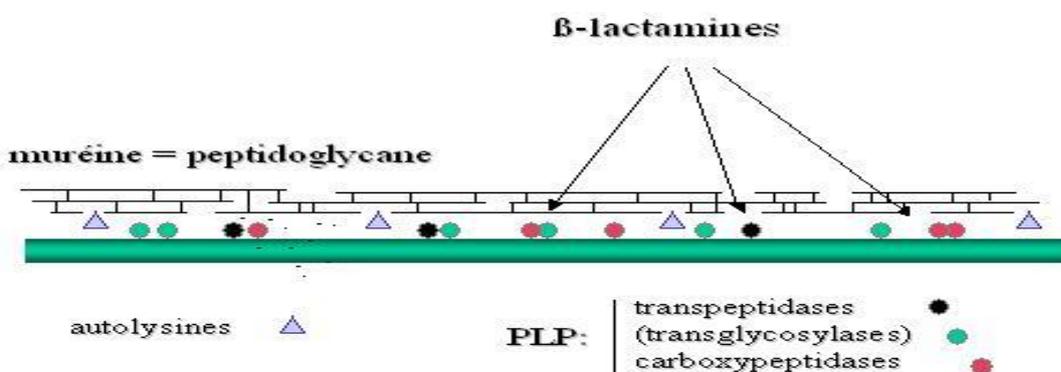


Figure 02 : Mode d'action des bêta-lactamines (Francois et Chomarat,2003) .

IV.1. Mode d'action des pénicillines

Les pénicillines sont produites soit par voie naturelle ou par voie semi-synthétique, elles empêchent les dernières étapes de la formation de la paroi cellulaire, car elles agissent en bloquant la réticulation des peptidoglycanes. Alors, La perte de la paroi cellulaire empêche la croissance de la bactérie et la cellule bactérienne meurt rapidement (**Gerard et al ., 2003**).

IV.2. Mode d'action des Carbapénèmes

Les carbapénèmes dont l'imipénème-cilastin, ayant un spectre d'action étonnamment étendu. Ces antibiotiques ont une activité inhibitrice sur la synthèse de la paroi cellulaire (**Gerard et al ., 2003**).

IV.3. Mode d'action des Céphalosporines

La structure du noyau des céphalosporines ressemble à celle du noyau de la pénicilline, et par le même mécanisme d'action que les pénicillines les céphalosporines inhibent la synthèse de la paroi cellulaire essentiellement. Mais, elles se distinguent des pénicilline par leur résistance aux pénicillinases et par leur efficacité contre un nombre plus grand de bactérie Gram négatif que les pénicillines naturelles. Les céphalosporines sont toutefois sensibles à l'action d'un groupe particulier de β -lactamases (**Gerard et al ., 2003**).

IV.4. Mode d'action de monobactames

Dans le but de vaincre les effets de la pénicillinase, l'aztréonam a été crée et il est le premier agent d'une nouvelle classe d'antibiotiques. Cet antibiotique synthétique, muni d'un seul cycle plutôt que des deux cycles habituels des β -lactames, est alors un monobactame. Le spectre d'action de l'aztréonam est remarquable, pour un composé apparenté aux pénicillines ; cet antibiotique a un effet seulement sur certaines bactéries à Gram négatif, y compris *Pseudomonas* et *E.coli*. les monobactames ont une caractère peu commun cette la est la faible toxicité, constitue un autre avantage de cette molécule (**Courvalin et al ., 1991**).

V- Mécanismes de résistance aux β -lactamines

Les modes de résistance connus actuellement qui résultent de la pression de sélection exercée par les ATB sont au nombre de quatre (**Muylaert.A et al., 2012**) :

L'inactivation enzymatique par la sécrétion d'une enzyme .

L'efflux actif .

La modification de la cible .

La diminution de la perméabilité (porines) à l'antibiotique.

Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance (Muylaert.A et al., 2012).

La résistance aux β -lactamines est basée sur la production d'enzyme appelée β -lactamase capable de les hydrolyser. Cette résistance peut être naturelle comme la production de beta lactamase chez *klebsiella sp* et bactéries à GRAM négatif à la vancomycine est naturelle ou acquise (Awa.N, 2015).

VI. Bêta-lactamases

VI.1 .Définition de β -lactamase

Les β -lactamases sont des enzymes bactériennes qui inactivent la plupart des bêta lactamines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes. (<http://www.hcsp.fr>)

VI.2.Mode d'action

Les β -lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau β -lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames; pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (Figure 3). Ainsi, les pénicillines sont dégradées en acide pénicilloïque et les céphalosporines en acide céphalosporoïque (Lagha.N, 2015).

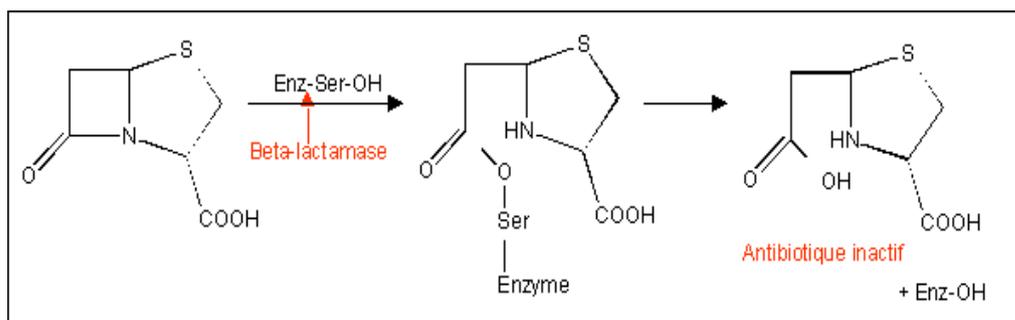


Figure 03: Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame (Lagha .N, 2015).

VI.3.Classification

Deux types de classification sont principalement utilisés pour ces enzymes :

a) Classification d'Ambler

Elle est établie selon la séquence protéique primaire, notamment au niveau du site actif .On distingue quatre classes :

a).1 Classe A : elle comprend des pénicillinases, des céphalosporinases inductibles (AmpA) chromosomiques ou plasmidiques, et des β -lactamases à spectre étendu (BLSE), sensibles à l'acide clavulanique.

a).2 Classe B : cette classe constitue le groupe des métallo-enzymes zinc-dépendantes (AmpB), pouvant être inhibées par acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA).

a).3 Classe C : elle est constituée de céphalosporinases (AmpC) chromosomiques ou plasmidiques, résistantes à l'acide clavulanique.

a).4 Classe D : oxacillinases (AmpD), le plus souvent plasmidiques, de phénotype pénicillinases peu sensibles aux inhibiteurs, pouvant être inhibées par le NaCl (**Bush , Jacoby et al .,1995**).

b) Classification de Bush, Jacoby et Medeiros :

Elle est établie selon les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse (**Bush , Jacoby et al .,1995**).

VII- β -lactamases à spectre étendu :

VII.1. Définition :

La première BLSE (β -lactamase à spectre étendu) a été décrite en 1985 dans une souche *Klebsella pneumoniae* en Allemagne (**Cattoir, 2008**). Ce terme est utilisé pour définir les enzymes qui hydrolysent l'ensemble des pénicillines et les céphalosporines C1G, C2G, C3G et l'aztréonam à l'exception des céphamycines (**Doit .C, 2010**).

Enfin, les BLSE sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique (**Belbel.Z, 2014**)

VII.2.Type des BLSE

Plus de 200 BLSE sont décrites et classé en 11 familles différentes : TEM, CTX, HSV, OXA, FEC, BES, SFO, PER, VEB, GES, TLA (**Cattoen.C, 2011**).

Les 3 majeures familles sont :

a. CTX-M : C'est l'abréviation de (Cefotaximase-Munich) :

Le type le plus récent, leur dénomination de céfotaximase est liée à leur pouvoir hydrolytique plus important envers le céfotaxime comparé à la cefatzidime et « M » pour Munich indiquant leur premier lieu d'isolement en 1989 (**Belbel.Z, 2014**).

Le gène de CTX-M a été retrouvé chez de nombreuses entérobactéries et tout particulièrement chez *Escherichia coli* (Marilyse.V, 2015) .

c'est l'abréviation de Temoneira (nom du patient) :

Les BLSE de types TEM dérivent de TEM-1 et TEM-2(enzymes principalement chromosomiques) par substitution d'un ou de plusieurs acides aminés (Bouazza.S, 2016).

Bien que les BLSE de type TEM fréquemment retrouvées chez *Escherichia coli* et *Klebseilla pneumoniae*, aussi ils été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries tell que *Enterobacter*, *Salmonella* et *Neissiria* (Cattoir.V, 2008)

Jusqu'à 90% de la résistance à l'ampicilline chez *Escherichia coli* est due à la production de TEM-1, qui est capable d'hydrolyser l'ampicilline, et à un degré moindre l'oxacilline ou la céfalotine (Bouazza.S, 2016)

SHV : c'est l'abréviation de (Sulfhydryl Variable) :

Est une β -lactamase codée par le gène blaSHV chromosomique naturellement présent chez les souches appartenant au phylogroupe Kp1 de l'espèce *Klebsiella pneumoniae*, SHV-1 est responsable aussi de près de 20%de la résistance plasmidique à l'ampicilline chez cette espèce (Elhani.D, 2012).

Parmi les entérobactéries les deux souches d'*Escherichia coli* (type TEM, CTX) et *Klebseilla pneumonie* (type SHV) sont les plus fréquents (Razazi.K, 2012) .

VIII- Facteurs de risque d'acquisition d'une entérobactérie productrice de β -lactamases à spectre élargi

Les facteurs de risque d'acquisition d'un germe producteur de BLSE ont largement été étudiés et sont principalement: l'admission en service de réanimation, hospitalisation prolongée, la pose de dispositifs invasifs (sondage urinaire par exemple), ventilation assistée, hémodialyse et plusieurs cures d'antibiothérapie, notamment par administration des C3G (Jacoby et Medeiros,1991 ;Paterson et Bonomo,2005 ; Cantón et Coque,2006) .

VIII-Conséquences d'une infection à entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi

Le diagnostic chez un patient d'une infection à une entérobactérie productrice de BLSE présente généralement des conséquences cliniques, financières et écologiques. En effet, les infections à E-BLSE s'accompagnent souvent d'échecs thérapeutiques avec un réel impact sur la

morbidity, la mortalité ainsi qu'une importante augmentation du coût d'hospitalisation due au prolongement de la durée d'hospitalisation et à l'utilisation de médicaments de dernier recours souvent onéreux. Aussi, l'utilisation intensive des antibiotiques pour le traitement de ce genre d'infections cause un changement de l'écologie bactérienne caractérisé par la prolifération des bactéries multirésistantes (**Dubouix et Marty,2004**) .

Chapitre II

Matériels et méthode

I. Durée et lieu de l'étude

Notre travail qui consiste à étudier la résistance des EBLSE est réalisée durant une période de 3 mois, il porte sur des patients hospitalisés et non hospitalisés dans des différents services de l'EPH de Boufarik de la wilaya de Blida.

II. Matériel

II.1. Matériel biologique

Les prélèvements correspondaient aux différents sites de colonisation (urines, pus, hémocultures)

II.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique présentée par les verreries et appareillages sont consignés en (Annexe 01), les milieux de cultures et réactifs (Annexe 02).

Antibiotiques : β -lactamines (AMP, AMC, CTX, FOX, CAZ, ATM, IPM), aminosides (AK), quinolones/fluoroquinolones (NA, CIP), Colistine (CL), Fosfomycine (FO).

III. Méthodologie de diagnostic

- **Prélèvements**

Au cours de notre stage, 250 prélèvements provenant de différents services de l'hôpital ont été analysés au niveau du laboratoire de microbiologie dans différentes paillasse (Tableau II).

Tableau II : total de prélèvements recueillis au niveau de différents services .

Patients hospitalisés	Types de prélèvement			total
	Urines	Pus	Sang	
Maladies infectieuses	87	34	19	140
pédiatrie	35	20	5	60
Chirurgie générale	15	10	5	30
Réanimation	5	3	2	10
Non hospitalisés : Externe	7	3	0	10

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignement qui comporte :

- Nom et prénom.
- Age et sexe.
- Service d'hospitalisation.
- Nature de prélèvements.
- Antibiothérapie en cours.

La recherche des entérobactéries dépend de la nature du prélèvement traité.

III.1. Étude cyto bactériologique des urines

En présence des urines on fait une appréciation macroscopique pour voir si les urines sont clair, trouble ou hématique ,puis un examen microscopique est réalisé par la numération cellulaire qui permet l'orientation du diagnostic, c'est une étape très importante dans l'ECBU. La numération se fait sur les cellules de Nageotte. Le but de cet examen est le dénombrement des leucocytes, des polynucléaires, recherche des hématies, des cellules épithéliales, levures, cristaux et présence ou absence de bactéries

- Mise en culture

Homogénéiser le prélèvement d'urine, puis ensemercer à l'aide d'une anse sur les boites de GN selon la méthode des 4 quadrants. Les boites seront incubées à 37°C /18 à 24h .

Pour la lecture des boites : une culture est dite positive lorsque les numérations sont supérieures ou égales à 10⁴ bactéries/ml et d'aspect monomicrobien.

III.2. Étude cyto bactériologique de pus

Les pus sont des suppurations qu'elles soient superficielles (escarre, ulcère, furoncle, etc...) ou profondes (ostéomyélite, spondylodiscite, d'origine digestive, etc.).

Après un examen direct par état frais , on ensemece quelques gouttes par stries, une gélose au sang cuit, une gélose au sang frais , une gélose nutritive toute en réalisant un enrichissement dans un bouillon glucosé tamponné (BGT) .L' incubation est faite à 37°C pendant 18 à 24h après incubation, à partir de bouillon d'enrichissement on ensemece les mêmes milieux si la culture dans les boites d'origine est négative.

III.3. Hémoculture

C'est la culture du sang devant tout syndrome infectieux dont on suspecte une septicémie, ou une bactériémie pour la mise en évidence de l'agent bactérien causal.

Le prélèvement sanguin est réalisé durant les pics fibrilles, 10ml de sang sont prélevés chez l'adulte et injectés dans des flacons anaérobies et aérobie respectivement (2-5ml chez l'adulte) en dehors de tout traitement antibiotique ; si le malade est sous traitement antibiotique, il doit faire une fenêtre thérapeutique de 24- 72h.

Technique :

Consiste à incuber les flacons du sang reçus le jour même à 37C° pendant 48h, et après les 48h on fait un repiquage , quelques gouttes sont ensemencées (4 quadrants) sur les boites gélose au chocolat et héktoen puis incuber à 37C° pendant 24h.

Après l'incubation, si la culture est positive on identifie le germe puis on réalise l'antibiogramme, si la culture est négative on réincube les flacons pendant 8j.

Après les 8 jours d'incubation on observe les flacons réincubées, si le résultat est positif le germe sera identifié puis on réalise un antibiogramme , si le résultat est négatif on conclura avec une absence de germes.

IV. Identification bactérienne

Le diagnostic bactériologique est réalisé en plusieurs étapes :

IV. 1. Appréciation macroscopique

Elle permet d'observer l'aspect, l'odeur, la couleur, la consistance des colonies et le virage des milieux de cultures sélectives utilisés.

IV.2. Examen microscopique**❖ Observation à l'état frais**

C'est une observation entre lame et lamelle à l'objectif x40, elle permet d'observer de la forme, la mobilité et le type de regroupement cellulaire.

- Coloration de Gram**• Principe**

La réponse différente des bactéries vis-à-vis de la coloration de Gram s'explique par une différence d'accessibilité de leurs cellules, déterminées par la structure particulière de la paroi cellulaire de chacun des deux groupes de bactéries.

• Technique

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

•Lecture

Lire à l'objectif x100 à l'aide de l'huile à immersion. On peut observer deux types de cellules les bactéries à Gram négatif sont de couleur rose et les bactéries à Gram positif sont colorées en violet.

* Les réactifs utilisés sont présentés dans **l'annexe 02**.

V. Identification biochimique après culture**V.1. Identification par la Galerie API 20E**

Les galeries représentent un système standardisé pour l'identification des entérobactéries ainsi que d'autres bacilles à Gram négatif .

• Technique:

Préparer la suspension bactérienne:

- Introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile, avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.
- Pour l'inoculation; il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne. Pour les autres tests, les tubes (et non les cupules) sont remplis avec la création d'une anaérobiose. Pour les tests:

ADH, LDC, ODC, URE, H₂S les cupules sont remplies par l'huile de vaseline stérile.

L'incubation se fait à 37 C° pendant 18-24 heures.

•Lecture : Se fait selon un catalogue analytique (**Annexe 03**).

V.2. Test complémentaires de l'identification biochimique**- Test à l'oxydase :**

Il est fondé sur la production bactérienne de l'enzyme « cytochrome oxydase » (plus précisément « la phénylène-diamine-oxydase ») qui entre dans les chaînes respiratoires aérobies et comporte le cytochrome C.

Cette recherche s'effectue sur un papier filtre d'oxydase prête à l'emploi ; imprégné de Ndiméthyl paraphénylène diamine oxalate.

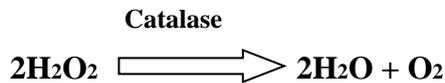
A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie de la bactérie à identifier et écraser sur le papier.

•Lecture: La présence d'une cythochrome oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé. A l'inverse, si la couleur du papier ne change pas, la souche est donc oxydase négatif.

-Test de catalase :

Il permet la détection de l'enzyme « catalase » qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Ce test s'effectue sur une lame porte objet propre.

Une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes) à l'aide d'une pipette Pasteur.

- **Lecture** : La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes par la formation de bulles d'oxygène.

VI. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »

La résistance des souches aux antibiotiques est testée par la méthode de diffusion en milieu gélose «Muller Hinton (MH)» ; c'est une technique rapide basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration de l'antibiotique obtenu après sa diffusion à partir du disque. La croissance bactérienne s'arrête lorsque les bactéries sont en contact avec la concentration minimale d'inhibition autour du disque d'antibiotique.

• Technique

La gélose MH est coulée en boîtes de Pétri sur épaisseur de 4mm, et séchées.

On prépare l'inoculum à partir d'une culture pure de 24h sur milieu d'isolement approprié, on racle à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis on le décharge dans 5 à 10 ml de l'eau physiologique ainsi bien homogénéiser la suspension.

Pour l'ensemencement, tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum, puis l'essorer en le passant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ensuite frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

disques sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu, on dépose 6 ou 7 disques

d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm, deux disques doivent être éloignés au minimum de 30 mm et une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque du bord de la boîte.

Laisser diffuser les disques après leur application à température ambiante pendant 15 min, puis incuber les boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

La lecture de l'antibiogramme se fait par la mesure des diamètres d'inhibition à l'aide du pied à coulisse ou par une règle graduée. Les résultats sont comparés aux valeurs critiques standards (**Annexe 04**), pour classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible (S), Intermédiaire (I), Résistante (R).

VII. Tests de détection de BLSE

Après l'antibiogramme. En cas de réduction de la sensibilité aux céphalosporines de troisième génération, les BLSE ont été mises en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération selon les techniques suivantes

VII-1- Test de synergie (Rahal et al . ,2005)

a) Principe:

Il consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamase et les disques de céphalosporines de troisième génération (cefotaxime, ceftazidime et céfepime) et l'aztréonam, cette image est dite en "bouchon de champagne" .

b) Technique

Un inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 h. La gélose Muller-Hinton estensemencée par la méthode d'écouvillonnage. Un disque d'amoxiciline/acide clavulanique est placé au centre de la boîte de Pétri distant de 3 cm de disques de céfotaxime (CTX), ceftazidime(CAZ) et aztréonam (AO) . Les boîtes sont incubées pendant 18 h à 37°C (**Rahal et al . ,2005**).

c) Lecture

La production des BLSE peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie en « Bouchon de champagne » entre le disque AMC et CTX/ CAZ/ ATM (**figure 04**).

En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques C3G ou de monobactam. On recherchera donc une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes : CTX = 27 mm, CAZ = 22 mm et

ATM = 27 mm. Dans ce cas, il faut pratiquer un test de confirmation de production de BLSE (Rahal et al . ,2005) .

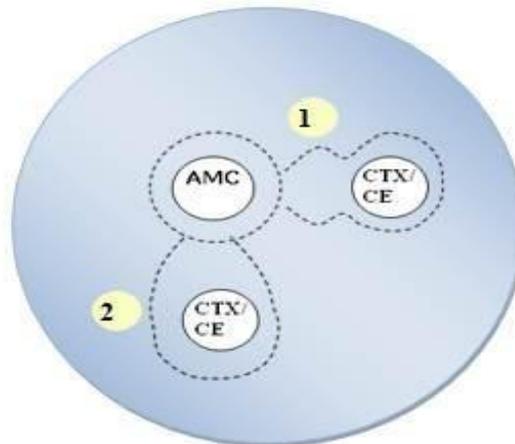


Figure 04 : Description de l'image de synergie.

1 :synergie en entonnoir

2 : synergie en bouchon de champagne

VII.2 Test de double disque (Rahal et al . ,2005).

a) Principe

Ce test consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G, précédé par l'application d'un disque contenant l'AMC, comparé à un autre disque portant la même céphalosporine et placé côte à côte sur la gélose de Mueller-Hinton.

b) Technique

Préparer une suspension à partir d'une culture de 18 ou 24 h l'ensemencer de la gélose Mueller-Hinton est selon la technique de l'antibiogramme, puis déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX) à une distance de 25mm (centre à centre).

Laisser diffuser les antibiotiques à la température ambiante du laboratoire pendant une heure de temps, après une heure d'incubation sur la paillasse, ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de C3G (**figure 05**), incuber les boîtes pendant 18 heures à 37°C (Rahal et al . ,2005) .

c) Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de C3G appliqué après diffusion du disque AMC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de C3G, ce qui indique une production d'une BLSE .

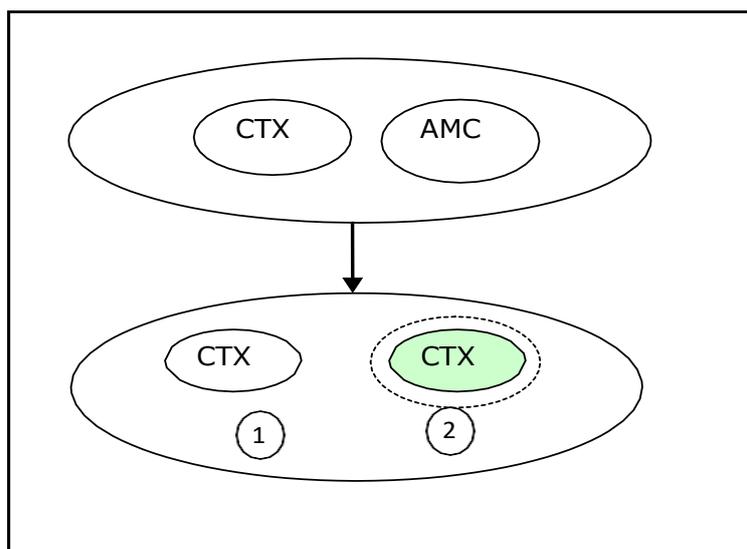


Figure 05 : Schéma de détection de BLSE par le test du double disque
(Rahal et al., 2005).

Chapitre III

Résultats et discussion

I. Identification bactérienne

I.1 .L'aspect macroscopique

- **Aspect des colonies** : A partir de différents prélèvements, l'isolement des souches sur les milieux héktoen (HE), et gélose nutritive(GN) a permis d'examiner la morphologie des colonies. *E. coli* donne des colonies blanchâtres, rondes et naines sur GN (**figure 06**) . Sur HE les colonies apparaissent en saumon cela indique l'acidification du milieu (**figure 07**).



Figure 06: Aspect macroscopique des colonies d'*E.coli* sur gélose nutritive.



Figure 07: Aspect macroscopique des Colonies d'*E.coli* sur milieu Héktoen.

I.2. Aspect microscopique

- **Etat frais** : des genres *Escherichia coli*, *Enterobacter sp*, *Proteus sp* *Citrobacter* et *Morganella* permet la visualisation des bacilles très mobile le genre *klebseilla* est immobile .

➤ **Coloration de GRAM** : permet l'observation de bacilles ou des coccobacilles à GRAM négatif avec différentes modes de regroupement (mono, diplobacille, en chaînette) (**figure 08**).

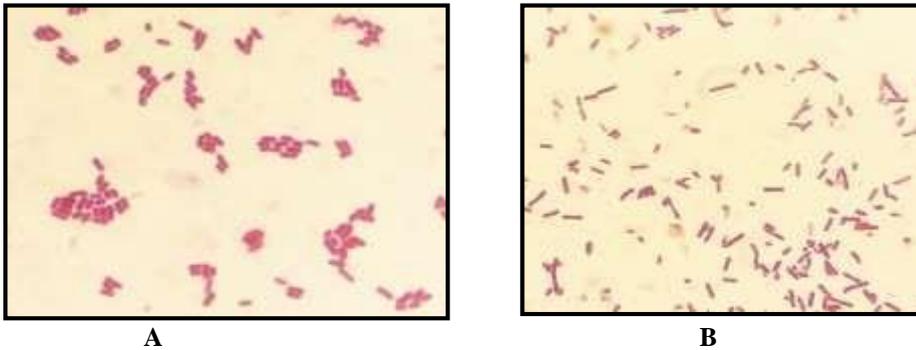


Figure 08: Observation microscopique après coloration de Gram (G x 100) .

A :Forme coccobacilles **B** :Forme bacilles

I.3. Identification biochimique des souches

Après l'incubation, la détermination de la positivité et la négativité de chaque test consiste en une lecture ; soit directe (sans ajouter aucun réactif) soit indirecte (en ajoutant des réactifs spécifiques). La lecture est faite en se référant au tableau de lecture (**Annexe 03**).

- ✓ Les souches *Escherichia coli* sont des bactéries fermentent le glucose et le lactose avec production de gaz et H₂S-, Citrate négatif, VP- et RM+, mannitol mobilité+, indole+, nitrate-, TDA, ADH, LDC et ODC-.
- ✓ Les souches *Klebisella* sont LDC⁻ (lysine-décarboxylase) ; ODC⁻ (l'ornithine-décarboxylase), ADH⁻ (l'arginine déshydrolyse) , VP⁺, ONPG⁺, uréase+.
- ✓ Les souches de *Citrobacter* sont Citrate positif, VP- et RM+, mannitol mobilité+, indole et nitrate-, TDA, ODC-, ADH et LDC+.
- ✓ Les souches d'*Enterobacter* sont Citrate positif, VP- et RM+, mannitol mobilité, indole-, nitrate+, voie d'attaque des glucides en aérobiose et anaérobiose est +, TDA et LDC -, ADH et ODC+.
- ✓ Les souches de *Proteus* sont Citrate négatif, VP- et RM+, mannitol -, mobilité+, indole et nitrate-, TDA et ODC-, LDC et ADH+.
- ✓ Les souches de *Morganella* sont Citrate négatif, VP- et RM+, mannitol mobilité-, indole et nitrate+, voie d'attaque des glucides en aérobiose et anaérobiose est + TDA et ODC+, LDC et ADH-

• Fréquence d'isolement des entérobactéries

Parmi 250 prélèvements recueillis 160 souches ont été isolées et identifiées avec une fréquence d'isolement qui est de 64 % (160/250) le reste des prélèvements qui présente 36% (90/160) sont réparties comme suit :12% (30/250) absence de germe dans le prélèvement,24% (60/250) des souches autres que les entérobactéries .

I.4.Répartition des souches par espèces

D'après le tableau ci-dessous, *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de **48.75 %**, suivi par *K. pneumoniae* et *M. morganii* avec des taux de**16.25 %** et **8.12%** respectivement, et **7.5 %** pour *C.freundii* ,**6.25 %** pour *P.vulgaris* ,**5%**pour *P.mirabilis* et de **3.12% à 0.62%** pour les autres espèces cités dans le tableau.

Tableau III: Répartition des souches par espèces

Espèce	Nombre	Taux
<i>E. coli</i>	78	48.75%
<i>K. pneumoniae</i>	26	16.25%
<i>M. morganii</i>	13	8.12%
<i>C.freundii</i>	13	8.12 %
<i>P.vulgaris</i>	10	6.25%
<i>P.mirabilis</i>	8	5%
<i>E.cloacea</i>	5	3.12%
<i>S.marescens</i>	4	2.5%
<i>P.penneuri</i>	2	1.25%
<i>S.dublin</i>	1	0.62%
<i>C.koseri</i>	1	0.62%

Les résultats révèlent que *Escherichia coli* occupe la première place parmi les entérobactéries (78/160) **48,75%**. En deuxième position on retrouve *Klebsiella pneumoniae* (26/160) **avec16,25%**. En troisième et quatrième position en retrouve *Morganella morganii* et *Citrobacter freundii* à **8,12 %**.

Nos résultats sont en accord avec les résultats d'une étude faite dans l'hôpital de l'aghouat , où *E. coli* occupe aussi la première place suivi par *K. pneumoniae* (**Lagha,2015**) La fréquence la plus élevée d'*E. coli* peut probablement s'expliquer par le faite 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 un mauvais nettoyage de la partie intime peu facilement provoquer l'entrer de la bactérie dans la vessie.

I.5.Répartition des souches par service

Tableau IV : Répartition des souches par services

Patients	Service	Nombre de souches isolées	%
Hospitalisés	Maladies infectieuses femmes(MIF)	77	48.12%
	Maladies infectieuses Homme(MIH)	58	36.25%
	Pédiatrie	12	7.5%
	Chirurgie générale	7	4.37%
	Réanimation	3	1.87%
Non hospitalisés	Externe	3	1.87%

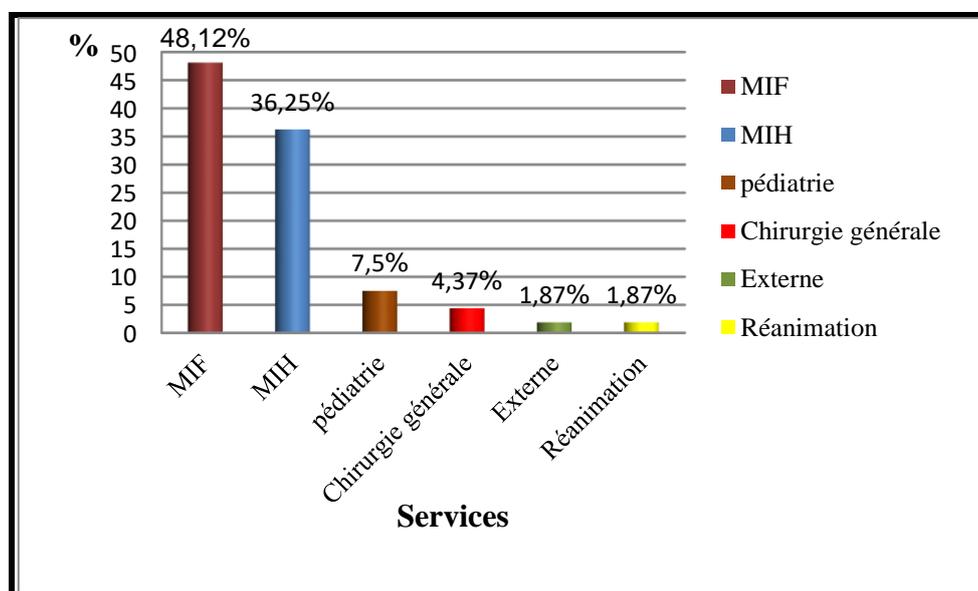


Figure 09: Répartition des souches d'entérobactéries par service.

Parmi les souches isolées en milieu hospitalier, le service maladies infectieuses femmes(MIF) qui occupe la première place avec **48.12 %** (77/160) des souches isolées, suivi

par **36.25%**(58/160) en maladies infectieuses Hommes (MIH), **7.5%** en pédiatrie (12/160) ,**4.37 %** (7/160) en chirurgie générale.

Nos résultats diffèrent avec ceux obtenus dans une étude faite par (**Mahmoud et al.,2010**) qui ont trouvé que la majorité des infections sont recensées dans les services de médecine ,cela est due à de nombreux facteur favorisants(diabète,sonde,immunodépression).

Le service des maladies infectieuses a été le plus dominant cela peut être expliqué par le grands nombres de patients qui ont été hospitalisé dans ce service .

I.6 .Répartition des souches selon la nature de prélèvement

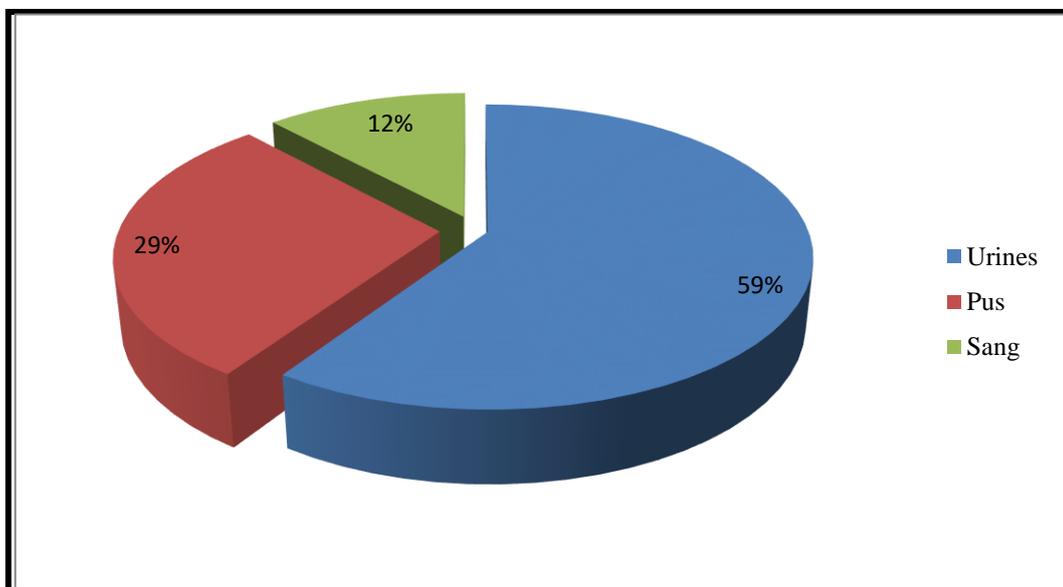


Figure10 : Répartition totale des souches d’entérobactéries par nature de prélèvement .

Le taux le plus élevé des prélèvements est représenté par les prélèvements urinaires **59%** (95/160), suivi par les prélèvements de Pus avec **29%** (46/160), et de sang avec**12%** (19/160)

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenu par (**Sekhsoukh et al**) qui a constaté que le le site urinaire était le plus contaminé par les entérobactéries. Ce résultat est expliqué par la longue durée d’hospitalisation des patients avec des sondes urinaires qui favorise la dissémination des germes .

Tableau V: Répartition des espèces d'entérobactéries selon la nature du prélèvement

Types de prélèvement	Espèces isolées	Nombre	%
Urines	<i>E.coli</i>	43	46%
	<i>K.pneumoniae</i>	13	14%
	<i>M.morganii</i>	12	13%
	<i>C.freundii</i>	12	13%
	<i>P.vulgaris</i>	5	5%
	<i>P.mirabilis</i>	5	5%
	<i>E.cloacea</i>	3	3%
	<i>S.marescens</i>	1	1%
Pus	<i>E.coli</i>	22	49%
	<i>K.pneumoniae</i>	11	25%
	<i>M.morganii</i>	1	2%
	<i>P.vulgaris</i>	5	11%
	<i>P.mirabilis</i>	3	7%
	<i>E.cloacea</i>	1	2%
	<i>P.penneuri</i>	1	2%
	<i>C.koseri</i>	1	2%
Sang	<i>E.coli</i>	13	68%
	<i>K.pneumoniae</i>	2	11%
	<i>S.marescens</i>	3	16%
	<i>S.dublin</i>	1	5%

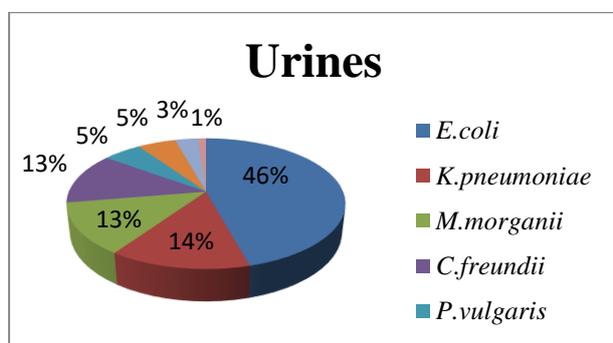


Figure 11 :Espèces d'entérobactéries isolées au niveau des urines

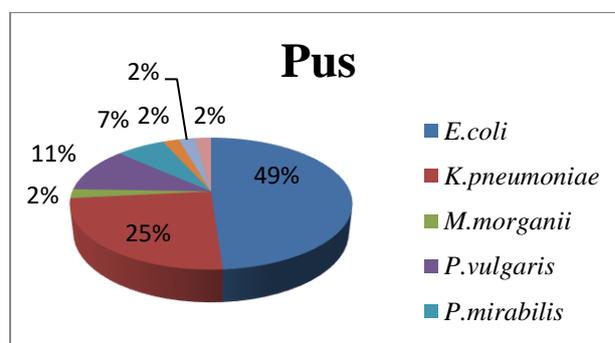


Figure 12 :Espèces d'entérobactéries isolées au niveau de pus

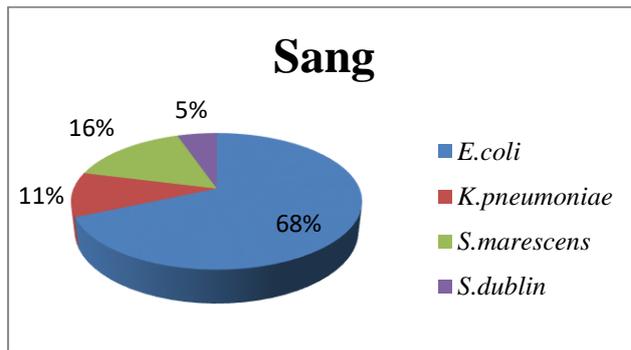


Figure 13:Espèces d’entérobactéries isolées au niveau des prélèvements sanguins

I.7.Répartition des souches selon le sexe

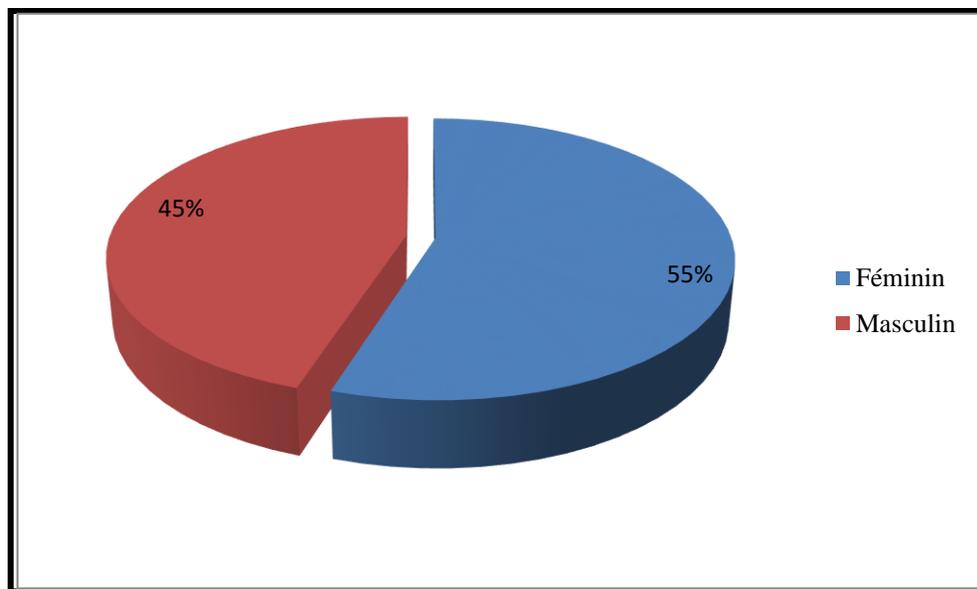


Figure 14: Répartition des souches selon le sexe .

D’après les résultats, le sex-ratio (Femme /Homme)=1,17, les infections aux entérobactéries touchent plus la population féminine avec une fréquence de **54%** (87/160) par rapport à la population masculine qui représente **46%** (74/160)

Ces résultats sont concordants avec ceux de (Larabi et al., 2003) Les souches provenaient essentiellement de sujets féminins (**64,24%**), cela peut s’expliquer par le fait que les prélèvements d’origine urogénitale étaient très largement majoritaires. En effet, les infections urinaires sont beaucoup plus fréquentes chez la femme que chez l’homme, cela s’explique par le fait que les glandes périurétrales n’ont pas d’activité antibactérienne (contrairement au liquide prostatique).

Ainsi cette prédominance féminine pourrait s'expliquer par les grossesses, la ménopause et le manque d'hygiène.

I.8. Répartition des souches selon la tranche d'âge

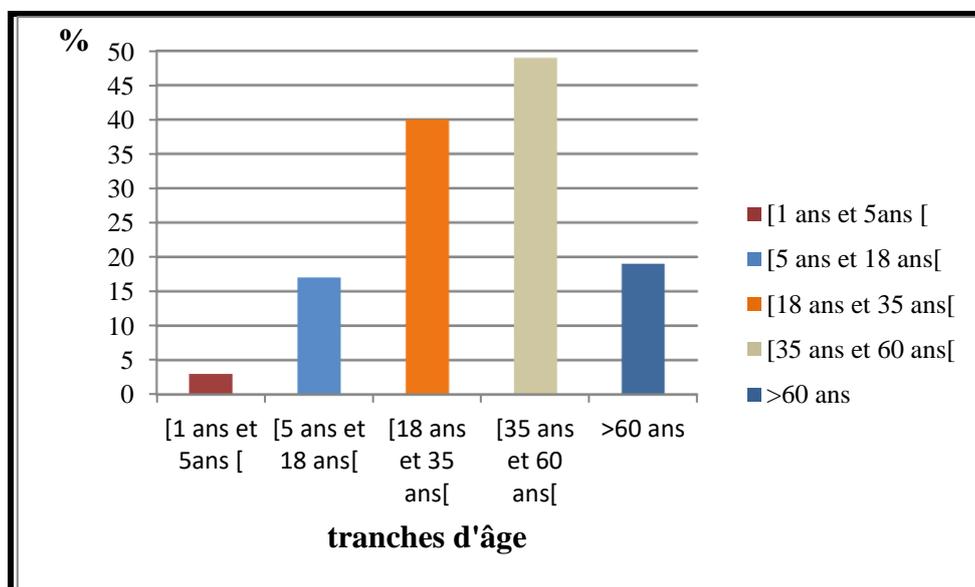


Figure 15: Répartition des souches par catégories d'âge.

D'après nos résultats l'effectif le plus élevé des patients se rencontre avec la tranche d'âge [35-60[ainsi dans la tranche d'âge [18-35[ans soit **49%** (34/160) et **40%**(32/160) respectivement, la fréquence de l'infection semble augmenter avec l'âge. Les facteurs intervenant dans l'augmentation de l'incidence des infections aux entérobactéries chez les personnes âgées sont multiples: Baisse des défenses immunitaires, alitement, effet des médicaments, déshydratation (particulièrement pour les infections urinaires).

II.Détermination du profil d'antibiorésistance

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Les diamètres critiques sont définis pour chaque antibiotique par le Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Les résultats de l'antibiogramme indique la présence de 40 souches résistantes aux céphalosporines de 3eme génération (CTX \leq 27) (**Annexe 06**).

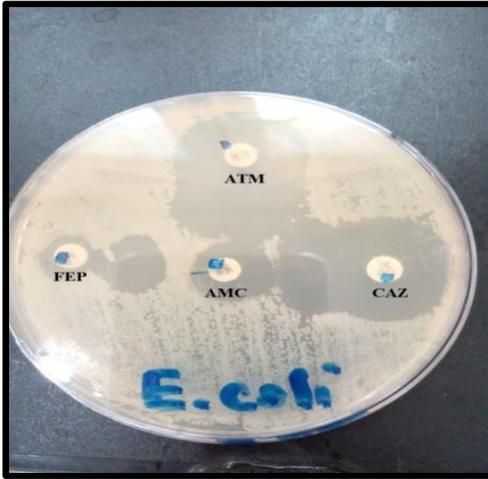


Figure 17: *E. coli* S 03 productrice de BLSE.

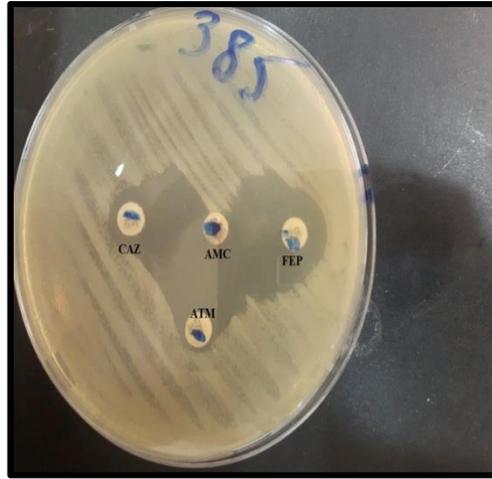


Figure 18: *E. cloacae* S 01 productrice de BLSE .



Figure 19: *E. coli* S 06 productrice de BLSE

Double disque :

Pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, un double disque est effectué pour confirmer la production d'une BLSE qui peut être masquée par un autre mécanisme de résistance, 9 souches positif (6*Klebsiella pneumoniae*, 3*Escherichia coli*) ont été détectées par ce test. (Figure 21).



Figure 20: Double disque négatif .



Figure 21 : Double disque positif .

II.1.Fréquence des E-BLSE

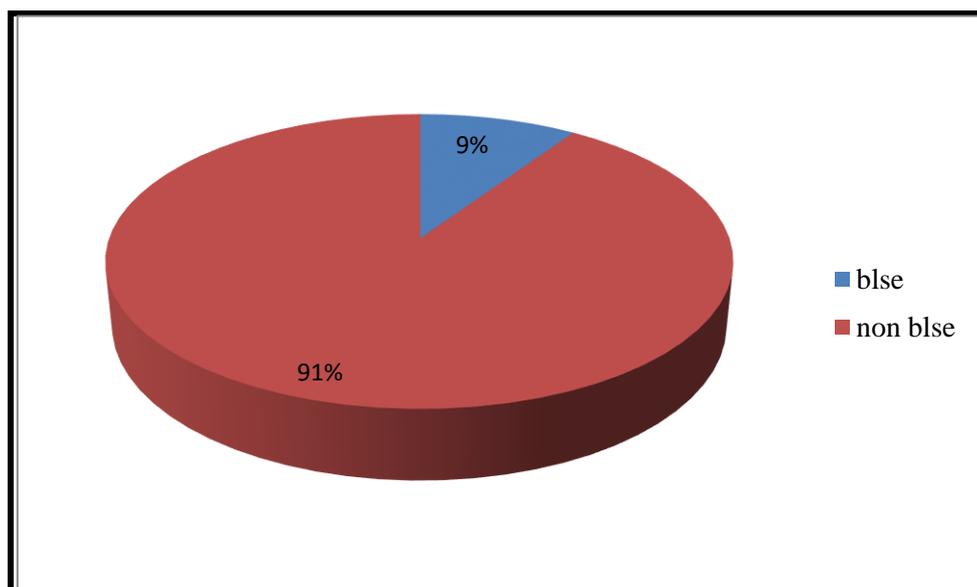


Figure 22 :Taux des souches à BLSE +

Les résultats sont en faveur d'une production de BLSE chez 9,3% des souches(15/160).

Cette valeur inférieure par rapport au résultat (39,22)% obtenue par (**Baba Ahmed-Kazi Tani et al. , 2013**) à Tlemcen et proche de celle faite au Belgique (6.6%) (**Luvsansharav et al. , 2011 ; Rodriguez-Villalobos et al. ,2011**).

II .2. Répartition des EBLSE par espèces

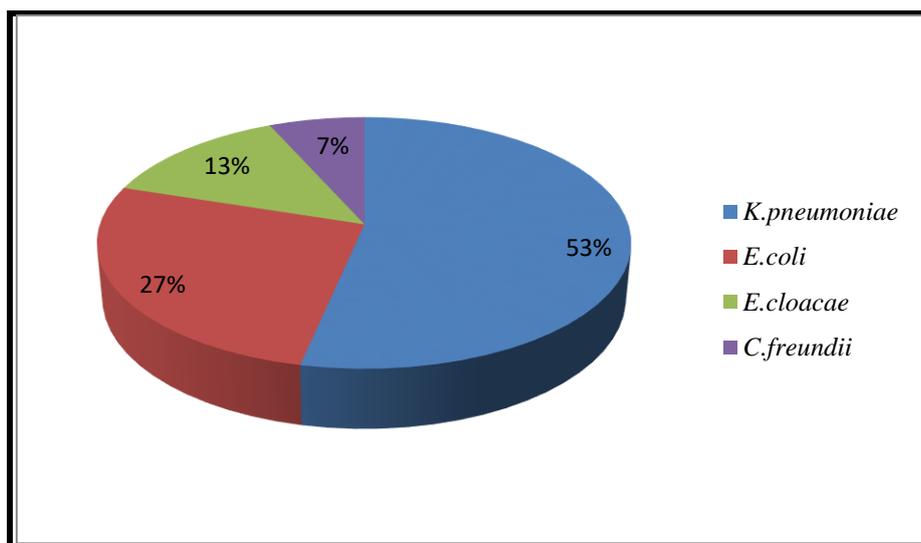


Figure 23: Répartition de l'ensemble des entérobactéries productrices de BLSE.

Les EBLSE sont réparties comme suit :**53%**(8 /15) *Klebsiella pneumoniae* suivi par *Escherichia coli* **27%** (4 /15).

Les prévalences de production de BLSE chez *K. pneumoniae* et *E. coli* que nous avons observé dans cette étude ont été de 30,7% (8/26) et 5 ,12%(5/78) respectivement ,Nos résultats diffèrent à ceux ontenu par une étude algérienne faite à Oum el Bouaghi qui ont trouvés *Escherichia coli* était l'espèce la plus isolée avec un pourcentage de **57%** suivit par *Klebseilla* avec un taux de **26%** puis *Citrobacter* qui présente **17%**.

Ce taux élevé de BLSE produite par le genre *Klebsiella* peut être expliqué par le fait que cette bactérie possède une résistance naturelle par sécrétion d'une pénicillinase qui peut être inhibée par l'acide clavulanique.

II.3 Répartition des EBLSE selon la nature des prélèvements

Tableau VI : Répartition des EBLSE selon la nature des prélèvements

Types de prélèvement	Nombre de Souches BLSE isolées	%
Urines	10	66.66%
Pus	3	20%
Sang	2	13.33%

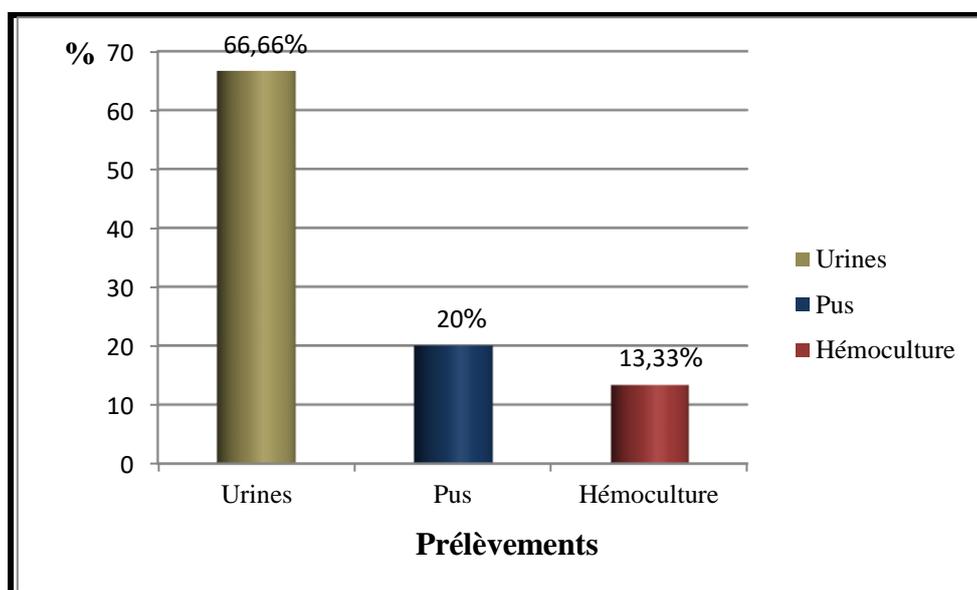


Figure 24: Taux de résistance par nature de prélèvement.

D’après nos résultats les urines représente le principale réservoir des BMR avec 66,66%(10/15) suivi par le pus avec 20%(3/15) et le sang avec 13,33%(2 /15) .

Ces résultats rejoignent avec ceux de (Lagha, 2015) qui a constaté que le site le plus concerné par les EBLSE était les urines (40%).

Le nombre élevé de BLSE dans les urines peut être expliqué par le faite que les prélèvements urinaires ont été majoritaire.

II.4. Répartition des BLSE par service

Tableau VII : Répartition des BLSE par service.

Services	Nombre de souches BLSE isolées	%
Maladies infectieuses femmes(MIF)	7	47%
Maladies infectieuses Hommes(MIH)	4	26%
Pédiatrie	2	13%
Chirurgie générale	1	7%
Externe	1	7%

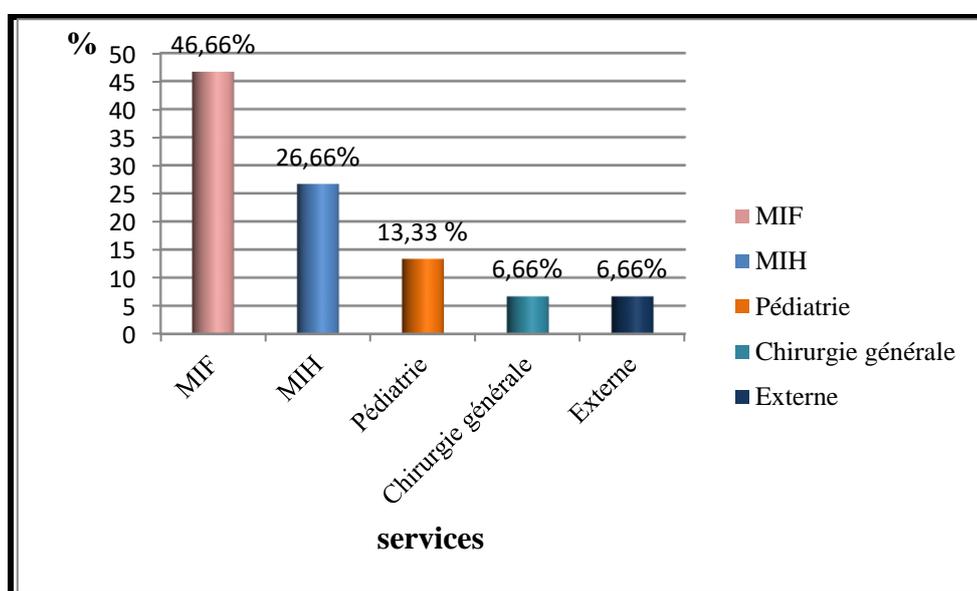


Figure 25: Répartition de souches EBLSE selon le service

La répartition des souches en fonction des services a montré que la majorité des BLSE isolées provenait essentiellement de service maladies infectieuses femme 46,66% suivis par maladies infectieuses homme 26,66%.

Nos résultats diffèrent de ceux obtenus dans une étude faite en Algérie par (Lagha ,2015) qui a rapporté 30% et 27% dans les services d’orthopédie et de réanimation suivi le service de médecine femme avec un taux de 20%

Le nombre élevé de BLSE dans le service maladies infectieuses est expliqué par le fait que les patients admis dans ce service sont particulièrement vulnérables aux infections par des

bactéries résistantes à cause de leurs défenses immunitaires affaiblies et de leur exposition aux antibiotiques à large spectre .

II.5 Profil de résistance des EBLSE aux antibiotiques

Les 15 souches d’entérobactéries ont été testées vis-à-vis de 13 antibiotiques, durant la période d’étude. Ces molécules appartiennent à 03 familles: β-lactamines (AMP ,AMC,CTX,FOX,CAZ,ATM,IPM), aminosides (AK), quinolones/fluoroquinolones (NA,CIP). Plus 2 autres antibiotiques ne faisant pas partie de ces familles Colistine(CL), Fosfomycine(FO). Les résultats de la résistance de ces souches ont été étudiés.

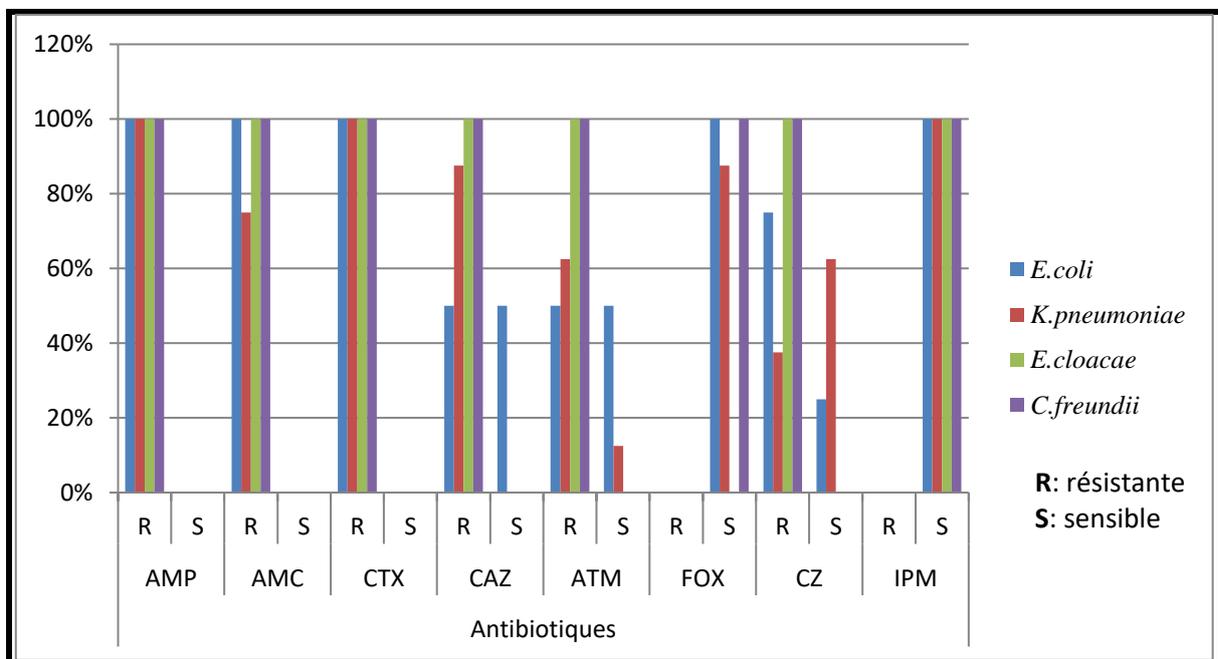


Figure26: Taux de résistance vis-à-vis aux β-lactamines .

D’après l’histogramme, nous notons que la totalité des souches ont présenté une résistance aux Pénicillines (AMP, AMC), Ainsi, à la plupart des céphalosporines (CTX ,CAZ,CZ) à l’exception de Céfoxitine(FOX) où toute les souches été sensible.

Une résistance totale est observé des souches E.cloacae et C.freundii pour l’aztréonam (ATM). Pour les carbapénème(IPM) on remarque que toutes les souches sont sensible pour cet antibiotique.

Les taux de résistance des EBLSE aux β-lactamines sont élevés à l’exception de l’imipénème qui reste actif sur toutes les souches. Nos résultats montrent que l’imipénème est la

seule β -lactamine active pouvant être utilisée comme un traitement alternatif pour ces souches résistantes au cefotaxime et ceftazidime. Selon les anciennes études, ce dernier considéré, pour longtemps, comme un antibiotique de choix pour les cliniciens (Mansour et al., 2008). Plusieurs études ont rapporté l'efficacité de cette molécule sur les souches d'entérobactéries productrices de BLSE : une sensibilité de 100 % a été rapportée par Goossens et Grabein,(2005).

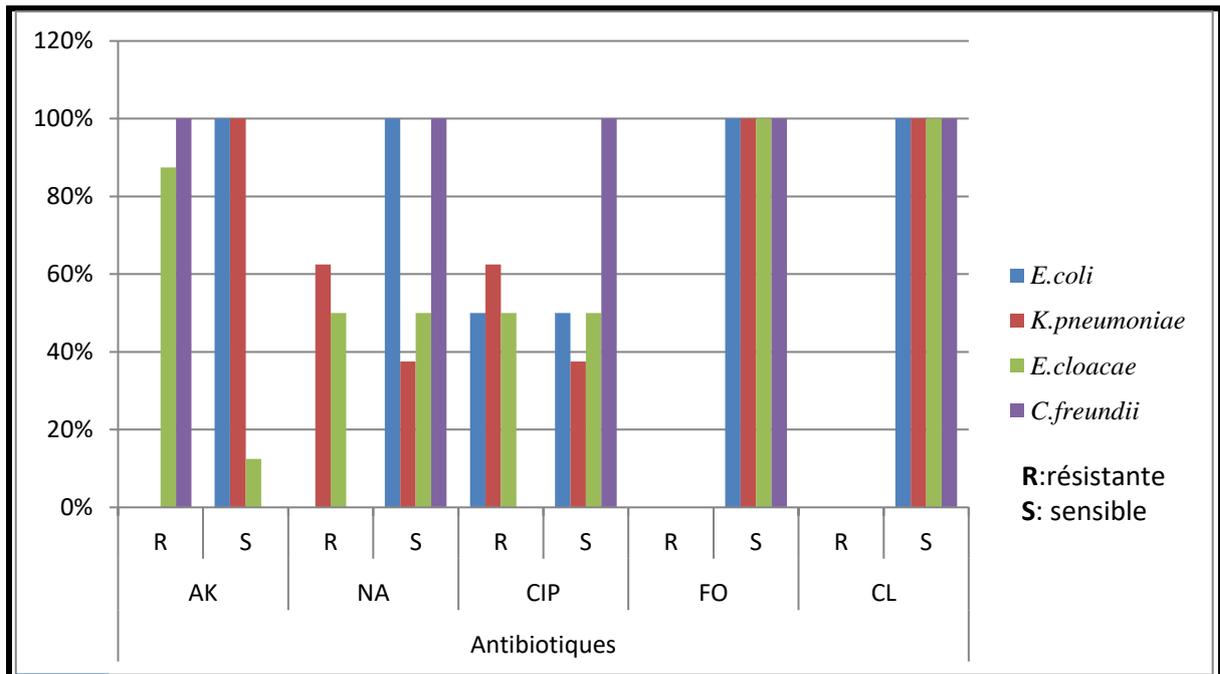


Figure 27: Taux de résistance vis-à-vis des autres antibiotiques.

- Pour les aminosides : aucune résistance n'a été observée vis-à-vis de l'amikacine chez *E.coli* et *K.pneumoniae* . En revanche *C.freundii*, a présenté une résistance total et un taux de 87.5% a été observé chez *E.cloacae* pour cet antibiotique .

Des taux de 76% de résistance aux aminosides sont rapporté par Touati et al (2006).

- Pour les fluoroquinolones : l'acide nalidixique(NA) a été efficace sur les souches *E.coli* et *C.freundii*, par contre les souches *K.pneumoniae* et *E.cloacae* ont présenté une résistance qui est de 62,5% et 50% respectivement.

On remarque que la majorité des souches *C.freundii* été sensible à la ciprofloxacine(CIP), par contre il existe une résistance chez la moitié des souches *E.coli* et *E.cloacae* pour cet antibiotique .

Plusieurs auteurs ont rapporté des taux de résistance variables à la ciprofloxacine : 55% de souches BLSE sont résistantes à la ciprofloxacine dans l'étude rapportée par Eisner et *al.* (Eisner et *al.*, 2006), et 80% rapportés par Goossens et Grabein (Goossens et Grabein, 2005).

- Pour les Colistine (CL) et Fosfomycine (FO) une excellente activité sur les souches étudiées (0% de résistance) est remarquée.

La colistine reste le seul antibiotique auquel aucune des souches n'est résistante ce qui peut être expliqué par le fait que cet antibiotique n'est pas encore utilisée pour le traitement des infections aux entérobactéries.

conclusion

Conclusion

Conclusion

L'émergence croissante des bactéries productrices de BLSE est liée à l'utilisation des antibiotiques à large spectre, leur implication dans les infections nosocomiales et communautaires nécessite une vigilance clinique, microbiologique et thérapeutique vu leur profil de résistance particulier aux antibiotiques.

Au terme de notre travail 250 prélèvements ont été recueillis ,et 160 souches d'entérobactéries ont été isolés et 15 souches BLSE ont été détectés.

LA prévalence des entérobactéries productrices de BLSE est assez importante en milieu hospitalier, soit 9.3% ; avec une prédominance de souches *Klebsiella pneumoniae* (53%), suivis *Escherichia coli* (27%), *Enterobacter cloacae* (13%), et *Citrobacter freundii* (7%) Ces souches ont présenté des phénotypes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques en particulier les bêta-lactamines, les quinolones et les aminosides. Seuls les carbapénèmes gardent une excellente activité sur ces souches.

Face aux résultats cumulés lors de ce travail, le suivi continu de l'évolution de la résistance d'entérobactéries aux agents antimicrobiens est donc crucial pour guider le praticien dans son choix de traitement.

La lutte contre la transmission croisée est fondamentale. Il convient pour cela de dépister au plus vite les patients colonisés par des germes multirésistants qui constituent un réservoir à partir duquel les bactéries peuvent disséminer et d'appliquer une stratégie d'isolement spécifique destinée à protéger les autres malades. Par ailleurs, nous conseillons d'utiliser les antibiotiques correctement et surtout lorsqu'il est vraiment nécessaire pour éviter tout phénomène de résistance.

Nous recommandons aussi de mettre en œuvre une stratégie, une réglementation et un contrôle rigoureux de l'hygiène en milieu hospitalier pour la prévention et la limitation de la dissémination des bactéries.

Références Bibliographiques

A

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

Alessandro E., Soula G., Jafrey Y., Gourouza B., Adehossi E. et Delmont J., 2012. « Pandémie grippale A/H5N1 et niveau de préparation du Niger : une étude sur les connaissances des soignants et l'organisation générale des soins ». *Bulletin de la Société de Pathologies Exotiques*, 105 (1) : 68-75.

Ayed.A, (2011). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat présenté en université Abou baker Belgayed Tlemcen

B

Baba Ahmed-Kazi Tani, Z., Decré, D., Genel, N., Boucherit-Otmani, Z., Arlet, G., and Drissi,M. 2013. Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial Resistant Strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010). *Microbial Drug Resistance*. 19(3): 185-190

Barrial, K., and Scotet, J. 2006. Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. *Tigaud de bactériologie*. 3-10

Belbel L.Z., (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de doctorat de l'université Badji Mokhtar-Annaba.

Bennani M. Recherche d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu isolées dans les selles. Projet de Fin d'Études [Licence Sciences et Techniques Biologie et Santé]. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah ; 2014.

Birgy, A., P. Bidet, N. Genel, C. Doit, D. Decré, G. Arlet, E. Bingen (2012). Phenotypic screening of carbapenemases and associated β -lactamases in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.* 50: 1295-1302.

Bouazza.S., (2016). Recherche des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi dans la viande rouge. Université de Tébessa.

Bush, K., G. A. Jacoby, and A. A. Medeiros. 1995. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:1211-1233.

C

Canton R, Coque TM. The CTX-M β -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9: 466-75.

Cattoen.C., (2011). BLSE Bêta lactamases à spectre étendu, CHU Valenciennes D.U.A.C.A.I.

Cattoir.V., (2008). Les nouvelles beta-lactases à spectre Etendu (BLSE). Unité INSERM U914, CHU Bicêtre, AP-HP, Faculté de Médecine de Paris-Sud, Université Paris XI, Le Kremlin Bicêtre, France.

Cavallo J.D., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabé E., 2004. Bêtalactamines. EMC-Maladies infectieuses. 1 : 129-202.

Charlier, P., Coyette, J., Dehareng, D., Dive, G., Duez, C., Dusart, J., Fonzé, E., Fraipont, C., Frère, J.M., Galleni, M., Goffin, C., Joris, B., Lamotte-Brasseur, J., and Nguyen-Distèche, M. 1998. Résistance bactérienne aux β -lactamines. *Synthèse. médecine/sciences.* 14 : 544-555 **Courvalin P.** ,2006. *Antibiogramme.* 2^{ème} édition, ESKA, Paris. 25P.

D

Doit.C et al., (2010). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectreétendu. *Elsiver ;* Volume 17, Supplement 4, Pages S140-S144

Dubouix A, Marty N. Détection des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu par biologie moléculaire : Avantages, limites. *Antibiotiques,* 2004; 6 : 193- 201 .

E

Eisner A., Fagan E. J., Feierl G., Kessler H. H., Marth E., Livermore D. M. et Woodford N. (2006). Emergence of *Enterobacteriaceae* isolates producing CTX-M extended-spectrum beta-lactamase in Austria. *Antimicrob Agents Chemother.* **50**:785-7.

Elhani.D., (2012). Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît The widening challenge of extended spectrum bêta-lactamases. *Ann Biol Clin ;* 70 (2) : 117-4 .

F

Farmer, J.J., Boatwright, K.D., and Janda, J.M. 2007. *Enterobacteriaceae: Introduction and identification.* *Manual of Clinical microbiology.* Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: 649-669.

Francois J, Chomarar M., 2003 et al .De l'antibiogramme à la prescription. Biomerieux, 2^{ème} édition . 8-22P

G

Gerard, I et al., (2003). Introduction à la microbiologie, pp.608-612.

Goossens H., et GrabeinB. (2005).Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended-spectrum beta-lactamase- and AmpC-producing *Enterobacteriaceae* from the MYSTIC Program in Europe and the United States (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis.* **53**:257-64.

H

Hart, C.A. 2006. *Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter* and *Serratia* spp. Principles and practice of Clinical Bacteriology. England, UK: John Wiley and Sons Ltd. 2nd ed: 377- 386.

K

Kassama M., et Hamaidi S. (2013). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à l'établissement hospitalier spécialisé de Constantine. Constantine: *Université Constantine 1*;62p.

Khayar Y. Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline – acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème [thèse]. Rabat : Université Mohammed V de Rabat ; 2011.

L

Lagha N. Étude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat [thèse de Sciences]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen ; 2015.

Larabi K., Masmoudi A. et Fendi C. (2003). Etude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infection urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930. *Médecines et Maladies infectieuses.* **33** : 348-352.

Lozniewski.A et al., (2010). Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. CCLIN Sud-Est.

Luvsansharav, U.O., Hirai, I., Niki, M., Nakata, A., Yoshinaga, A., Moriyama, T., and Yamamoto, Y. 2011. Prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* among healthy adult people in Japan. *J Infect Chemother.* **17**(5): 722–725.

M

Mahmoud,M;Benseddik,N;Yahyaoui,G .(2010).Profil de résistance des enterobactéries dans les infections urinaires.Maroc Médical,32 (1) .

Mansour W., Bouallegue O., Dahmen S. et Boujaafar N. (2008) .Caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux b-lactamines chez des souches de *Acinetobacter baumannii* isolées à l'hôpital universitaire Sahloul, Sousse en Tunisie (2005). *Pathologie Biologie*. **56** :116–120.

Medeiros, A.A. 1984. β -lactamases. *Bnt. Med. Buli.* 40: 18-27.

Marylyse.V., (2015). Résistance Aux B -Lactamines à Large Spectre Chez les bactéries à gram négatif. Épidémiologie et diagnostic. Université LAVAL. Canada

Mulyaret A et al, (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité », Liège. *Ann. Méd. Vét.*, 2012, 156, 109- 123 .

P

Pagotto, F.J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S., and Farber, J.M. 2003. *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. *J Food Protect.* 66 (3): 370-375 P.

Paolozzi L., et Libert J. C. (2015). *Microbiologie: Biologie des procaryotes et de leurs virus.* Paris: *Les presses d'Espagne par Unigraf S.L*; 449,452,453p.

Paterson D, Bonomo R. ,2005 Extended-spectrum beta lactamases: A clinical update. *Clin MicrobiolRev*; 18:657-86 P.

Paterson D.L. 2006. Resistance in Gram-Negative Bacteria: *Enterobacteriaceae*. *The American Journal of Medicine*; 119 (6A): S20-S28.

Pavageau. J Study of the antibiotic resistance Gram negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*: which actual and future therapeutic solutions against the resistant bacterial infections?. *Pharmaceutical sciences.* 2017.

Pierrot.S., (2015). Portage de bactéries multi résistantes en structures d'accueil pour personnes âgées : évaluation d'une politique de dépistage cible en fonction des facteurs de risque. Université de LORRAINE.

R

Rahal, K., Belouni, R., and Benslimani, A. 2005. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. *Rec de L'OMS. 4^{ème} édition. Algérie.* 46-52.

Ramdani B. N., SEGHER M., BELOUNI R., et BENSLIMAN A. (2009). Manuel de microbiologie. Alger: *Les presses de l'office des publications universitaires*;91,92p.

Robin, F., Gibold, L., and Bonnet, R. 2011. Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires*. 445 : 47-58 .

Rodriguez-Bano, J., Alcalá, J., Cisneros, J., Grill, F., Oliver, A., Horcajada, J.P., Tórtola, T., Mirelis, B., Navarro, G., Cuenca, M., Esteve, M., Peña, C., Llanos, A.C., Cantón, R., and Pascual A. 2008a. Community infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med*. 168(17): 1897–1902

S

Sekhsokh Y., Chadli M. et El Hamzaoui S.A. (2008). Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecines et maladies infectieuses*. **38** : 324-327.

Talbert M., Willoquet G., et Gervais R. (2015). Guide pharmaco clonique. Italie:*Les presses d'imprimerie LEGOPRINT*;1060,1068,1077, 1091p.

T

Terkja DN. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen [Mémoire de master de Microbiologie]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen ; 2013.

Touati, A., Medboua, C., Touati, D., Denine, R., Brasme, L., and de Champs, C. 2012. CTX- M-15- producing Enterobacteriaceae isolates causing bloodstream infections at the Beni-Messous hospital in Algiers (Algeria).

Z

Zenati.F, (2016). Effet inhibiteur des huiles essentielles de trois plantes aromatiques sur *Escherichia coli* (BLSE) responsable d'infection urinaire d'origine hospitalière. Thèse de doctorat soutenu en université d'ABOU BAKER BELGAID. Tlemcen.

Site internet : disponibles à partir de l'URL : (<http://www.hcsp.fr>).

Annexes

Annexe 01

Le matériel utilisé au laboratoire



Microscope optique



Agitateur



Etuve à 37c°



Four pasteur

Petit matériel

Anse en platine	Portoir
Pipette pasteur	Bec Bensen
Ecouvillons stériles	Boite pétri
Tubes à essais	Règle graduée
Pinces	Disques d'antibiotiques

Annexe 02 : Composition de certains milieux de cultures réactifs

Eau physiologique	
- Chlorure de sodium	9g
- Eau distillé	1000ml
❖ Filtration sur membrane	
❖ Stérilisation par autoclave 15 min à 120 min	
❖ PH = 7	

Gélose Nutritive		
Extrait de viande	1	g
Extrait de levure	2,5	g
Peptone	5	g
Chlorure de sodium	5	g
Agar	15	g
PH	7	
Gélose Mueller Hinton		
Infusion de viande de bœuf	300	g
Hydrolysate de caséine	17,5	g
Amidon	1,5	g
Agar	17	g
PH	7.4	

Gélose Hektoen	
- Extrait de viande	3 g/l
- Extrait de levure	3 g/l
- Lactose	12g/l
- Salicine	2 g/l
- Saccharose	12 g/l
- Chlorure de sodium	5 g/l
- Sels biliaires	4g/l
- Bleu de Bromothymol	0,064 g/l
- Fuchsine acide	0,1 g/l
- Agar	18g/l
- Eau distillé	1000 ml
❖ Autoclaver 15 min à 121°C	
❖ pH = 7,4 +/- 0,2	
25 ml de la gélose Hektoen.	

Bouillon glucosé tamponné (BGT)		
Peptone	20	g
Extrait de viande	2	g
Chlorure de sodium	2,5	g
Phosphate monopotassique	0,7	g
Phosphate di-sodique	8,3	g
Glucose	4	g
pH	7,7	

Réactifs de la coloration de Gram :

Violet de gentiane	
– Phénol	2.0 g
– Violet de gentiane	1.0 g
– Éthanol à 90°.....	10 ml
– Eau distillée	100 ml

Lugol	
– Iodure de potassium	2.0 g
– Iode métalloïde	1.0 g
– Eau distillée	300 ml

– Fuchsine basique.....	Fuchsine de Ziehl	1.0g
– Phénol		5.0 g
– Éthanol à 90°.....		10 ml
– Eau distillée		100 ml

ANNEXE 03 : Lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (Bio merieux).

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-Galactosidase	Beta- galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin Liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	L-tryptophane	Production d'indole	James/ 2 mn	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2/ 10mn	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
Nitrate réductase Tube GLU	Potassium nitrate	Production de NO ₂	NIT1 + NIT2 / 2-3 mn	
			Jaune	Rouge
		Réduction au stade N ₂	Zinc / 5mn	
			Rouge/orangé	Jaune

**Annexe 04: Tableau de lecture de valeurs critiques des diamètres des zones
d'inhibition**

Antibiotiques testés	Charge des disques (µg)	Résistante	Intermédiaire	Sensible
Ampicilline*	10	≤13	14-16	≥32
Amoxicilline-acide clavulanique	20/10	≤13	14-17	≥32/16
Céfazoline	30	≤19	20-22	≥8
Céfotaxime	30	≤22	23-25	≥26
Imipenème	10	≤19	20-22	≥23
Amikacine	30	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10	≤12	13-14	≥15
Acide nalidixique	30	≤13	14-18	≥19
Ciprofloxacine	5	≤15	16-20	≥21
Chloramphénicol	30	≤30	13-17	≥18
Fosfomycine	200	≤12	13-15	≥17
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75	≤10	11-15	≥4/76

*La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline

Annexe 05 : Résultats des tests de l'API 20E

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	Les espèces
01	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
02	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
03	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>Escherichia coli</i>
04	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Morganella morganii</i>
05	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>Escherichia coli</i>
06	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Citrobacter freundii</i>
07	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Proteus penneri</i>
08	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
09	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
10	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Citrobacter koseri</i>
11	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	<i>Proteus vulgaris</i>
12	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
13	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Salmonella dublin</i>

Annexe 06

Les données de toutes les souches résistantes

S N°	SOUCHES	sexe	Age	service	Nature de prélev.
S 01	<i>E. cloacae</i>	M	55ans	CHH	Pus
S 02	<i>K. pneumoniae</i>	M	78 ans	MIH	Urines
S 03	<i>K. pneumoniae</i>	F	21 ans	MIF	Pus
S 04	<i>K. pneumoniae</i>	M	04 mois	MIP	Urines
S 05	<i>K. pneumoniae</i>	F	50 ans	MIF	Urines
S 06	<i>K. pneumoniae</i>	F	60 ans	MIF	Urines
S 07	<i>K. pneumoniae</i>	F	30 ans	MIF	Urines
S 08	<i>K. pneumoniae</i>	M	60 ans	MIH	Urines
S 09	<i>K. pneumoniae</i>	M	Nveau NE	MIP	Urines
S 10	<i>C.freundii</i>	F	7 Ans	MIP	Urines
S 11	<i>E. coli</i>	F	24 mois	MIF	Pus
S 12	<i>E. coli</i>	F	33 ans	MIF	Urines
S 13	<i>E. coli</i>	F	25 ans	MIF	Urines
S 14	<i>S. marsescens</i>	F	12 ans	MIP	Urines
S 15	<i>K. pneumoniae</i>	M	22 ans	MIH	Urines
S 16	<i>K. pneumoniae</i>	M	48 ans	MIH	Urines
S 17	<i>C.freundii</i>	F	29ans	MIF	Urines
S 18	<i>K. pneumoniae</i>	F	45 ans	MIF	Pus
S 19	<i>M. morganii</i>	M	54ans	MIH	Urines
S 20	<i>E. coli</i>	M	45 ans	MIH	Hémoculture
S 21	<i>K. pneumoniae</i>	M	33 ans	MIH	Urines
S 22	<i>E. coli</i>	F	34 ans	MIF	Urines
S 23	<i>E. cloacae</i>	F	90 ans	EXT	Urines
S 24	<i>E. coli</i>	F	45 ans	MIF	Urines
S 25	<i>E. coli</i>	F	90 ans	Réa	Pus
S 26	<i>E. cloacea</i>	M	06 ans	MIP	Urines
S 27	<i>E. cloacae</i>	M	33 ans	MIH	Urines
S 28	<i>K. pneumoniae</i>	F	60ans	MIF	Urines
S 29	<i>K. pneumoniae</i>	F	50 ans	MIF	Pus
S 30	<i>P.mirabilis</i>	F	64 ans	MIF	Urines
S 31	<i>K. pneumoniae</i>	F	56 ans	MIF	Urines
S 32	<i>E.coli</i>	M	30mois	MIH	Urines
S 33	<i>E.coli</i>	F	26ans	MIF	Urines
S 34	<i>C.freundii</i>	M	18ans	MIH	Urines
S 35	<i>E. cloacae</i>	M	36ans	MIH	Urines
S 36	<i>E.coli</i>	M	50ans	MIH	Hémoculture
S 37	<i>K. pneumoniae</i>	M	10mois	MIP	Urines
S 38	<i>E. coli</i>	M	72mois	MIH	Pus
S 39	<i>E. coli</i>	F	27ans	MIF	Urines
S 40	<i>K.pneumoniae</i>	M	26 ans	MIH	Urines

Les diamètres de résistance des entérobactéries aux β -lactamines et aux autres familles d'antibiotique

CODE	SOUCHES	SYN	AMP	AMC	CTX	CAZ	CZ	ATM	IMP	FOX
S01	<i>E. cloacae</i>	+	R	R	R	R	R	R	S	S
S02	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	R	R	S	R	S	S
S03	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	R	R	S	R	S	S
S04	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	I	R	R	S	S	S	S
S05	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	I	R	R	R	R	S	S
S06	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	I	R	R	I	I	S	S
S07	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	S
S08	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	R	I	R	S	S	S
S09	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	S
S10	<i>C.freundii</i>	+	R	R	R	R	R	R	S	S
S11	<i>E. coli</i>	-	R	R	R	I	I	S	S	S
S12	<i>E. coli</i>	+	R	R	R	S	R	R	S	S
S13	<i>E. coli</i>	-	R	I	I	S	S	S	S	S
S14	<i>S. marsescens</i>	-	R	I	R	I	I	I	S	S
S15	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	R	R	S	R	S	S
S16	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	R	R	R	R	S	S
S17	<i>C.freundii</i>	-	R	R	R	R	I	R	S	S
S18	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	I	R	R	R	R	S	S
S19	<i>M. morgani</i>	-	R	R	R	I	I	I	S	S
S20	<i>E. coli</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	R
S21	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	R
S22	<i>E. coli</i>	-	R	I	R	I	I	I	S	S
S23	<i>E. cloacae</i>	+	R	R	I	R	R	R	S	S
S24	<i>E. coli</i>	+	R	R	R	R	S	S	S	S
S25	<i>E. coli</i>	+	R	R	R	R	R	R	S	S
S26	<i>E. cloacea</i>	-	R	I	I	R	I	R	S	S
S27	<i>E. cloacae</i>	-	R	I	R	R	R	R	S	S
S28	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	S	R	R	R	R	S	S
S29	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	I	R	R	R	R	S	S
S30	<i>P.mirabilis</i>	-	R	I	R	R	R	R	S	S
S31	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	R	R	S	R	S	I
S32	<i>E.coli</i>	-	R	R	R	R	S	R	S	S
S33	<i>E.coli</i>	-	R	R	R	S	R	S	S	S
S34	<i>C.freundii</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	R
S35	<i>E. cloacae</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	R
S36	<i>E.coli</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	S
S37	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	R
S38	<i>E. coli</i>	-	R	R	R	R	R	R	S	S
S39	<i>E. coli</i>	+	R	R	R	S	R	S	S	S
S40	<i>K.pneumoniae</i>	-	R	R	R	R	S	S	S	S

CODE	SOUCHES	SYN	AK	NA	CIP	FO	CL
S01	<i>E. cloacae</i>	+	R	R	R	S	S
S02	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	S	S	S
S03	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	S	S	S
S04	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	S	R	S	S
S05	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	R	R	S	S
S06	<i>K. pneumoniae</i>	+	S	R	S	S	S
S07	<i>K. pneumoniae</i>	-	I	S	S	S	S
S08	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	R	S	S
S09	<i>K. pneumoniae</i>	-	S	S	S	R	S
S10	<i>C.freundii</i>	+	R	S	S	S	S
S11	<i>E. coli</i>	-	S	R	R	S	S
S12	<i>E. coli</i>	+	S	S	S	S	S
S13	<i>E. coli</i>	-	S	S	S	S	S
S14	<i>S. marsescens</i>	-	S	I	I	S	S
S15	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	S	R	S	S
S16	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	S	R	S	S
S17	<i>C.freundii</i>	-	S	I	S	S	S
S18	<i>K. pneumoniae</i>	-	S	S	S	S	S
S19	<i>M. morgani</i>	-	S	R	S	S	S
S20	<i>E. coli</i>	-	R	S	S	S	S
S21	<i>K. pneumoniae</i>	-	S	R	R	S	S
S22	<i>E. coli</i>	-	S	R	R	R	S
S23	<i>E. cloacae</i>	+	S	S	S	S	S
S24	<i>E. coli</i>	+	S	S	S	S	S
S25	<i>E. coli</i>	+	S	S	R	S	S
S26	<i>E. cloacea</i>	-	R	S	S	S	S
S27	<i>E. cloacae</i>	-	S	R	R	R	S
S28	<i>K. pneumoniae</i>	-	S	S	S	S	S
S29	<i>K. pneumoniae</i>	-	S	S	R	S	S
S30	<i>P.mirabilis</i>	-	R	S	S	R	S
S31	<i>K. pneumoniae</i>	+	R	R	S	S	S
S32	<i>E.coli</i>	-	R	S	S	S	S
S33	<i>E.coli</i>	-	R	R	R	S	S
S34	<i>C.freundii</i>	-	R	R	R	S	S
S35	<i>E. cloacae</i>	-	R	S	S	R	S
S36	<i>E.coli</i>	-	R	S	S	R	S
S37	<i>K. pneumoniae</i>	-	R	S	S	R	S
S38	<i>E. coli</i>	-	R	S	S	R	S
S39	<i>E. coli</i>	+	S	S	R	S	S
S40	<i>K.pneumoniae</i>	-	S	R	S	R	S