

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté de science de vie et de nature

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude

En vue d'obtention du diplôme de Master en biologie

Spécialité : Microbiologie

Thème

Identification des entérobactéries multi résistantes à partir des prélèvements biologiques au CHU Béni Messous

Soutenue le : 15 /07/ 2023

Réalisé par :

Mlle .BOUCHIREB Rima

Mlle. BOUZID Razika

DEVANT LE JURY

Mme AIT SAADI N.

MCA

Université Blida 1

Présidente

Mme MOHAMED MAHMOUD F.

MCA

Université Blida 1

Examinatrice

Mme AMMARI H.

Maitre assistante

CHU béni Messous

Promotrice

Promotion : 2022 - 2023

REMERCIEMENTS

Dans un premier temps on remercie le bon Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master et de pouvoir réaliser ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble du membre de jury :

Nous tenons à gratifier

Mme. Ait Saadi N

D'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous adressons nos vifs remerciements à

Mme. Mohamed Mahmoud F

Pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger.

Nous remercions également notre promotrice

Dr. Ammari H

Pour leur encadrement, orientation et ses précieux conseils et pour la confiance qu'elles nous ont témoignée tout au long de ce travail. Nous lui sommes reconnaissantes pour sa patience, ses encouragements.

Nous remercions énormément

Mme. Akmoun R

Pour son aide et son soutien et sa disponibilité à tout moment.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et gratitude à toute l'équipe du laboratoire central du CHU béni Messous pour leur bienveillance et aide précieuse, pour leur implications dans ce travail qui m'a été d'un grand secours.

Enfin, nous adressons nos sincères sentiments de gratitude et de reconnaissances à nos familles et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

En ce moment particulier de ma vie, je tiens à dédier ce modeste travail

A mes chers parents

Qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études, leurs soutiens permanent dans ma vie, leurs confiances en moi, leurs sacrifices, et leurs encouragements, leurs amour et leurs patiences ont été pour moi le gage de la réussite J'espère que je réalise aujourd'hui un de leurs rêves.

A mes sœurs

Karima et Samia, pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mes frères

Soufiane et Hafid, qui m'ont toujours encouragé.

A mon très chère amie Houria, qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

A mon binôme Rima, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble.

A tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou loin.

Razika 

Dédicace

Je dédie ce travail à tous ceux qui sont chers à mon cœur.

A ma chère Mère, le symbole de tendresse, qui m'a encouragé tout au long de mes études. Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi, je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale.

A mon cher Père, aucun mot ne saurait décrire mon immense amour, ma gratitude et ma profonde considération pour tous les sacrifices que vous avez consenti à mon égard, mon éducation et mon bien être pour tous vos encouragements tout au cours de ces années.

A mes chers frères et sœurs

Les mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon amour et mon affection. Merci d'être toujours à mes côtés je prie Dieu, le tout puissant, pour qu'il vous donne bonheur et prospérité.

A mes adorable amies

Meryem, Sakina, Ikrem et Lydia pour leur soutien inconditionnel, leur encouragement, leur sincère amitié et confiance, et à qui je dois ma reconnaissance et mon attachement.

A mon binôme Razika

Avec qui j'ai fait un beau parcours sur le travail de ce mémoire

A toute la promo de microbiologie 2022-2023

Je vous souhaite le bonheur et la réussite dans vos vies.

Rima 

Résumé

Les bactéries multirésistantes et hautement résistantes émergentes représentent un problème de santé publique, la prise en charge des infections causées par ces souches, représente un enjeu prioritaire en raison des risques d'impasse thérapeutique. Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries qui représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif. Les entérobactéries jouent un rôle crucial dans la pathologie humaine en raison de la diversité d'espèces bactériennes qui les composent et de leur impact sur la santé des populations. Elles sont à l'origine d'un large éventail d'infections graves et potentiellement mortelles, notamment les méningites, les infections urinaires, les gastro-entérites, les infections respiratoires. Notre étude pro-rétrospective effectuée dans l'unité de bactériologie du laboratoire central de CHU Béni Messous d'Alger. A pour but d'isoler et d'identifier des souches d'entérobactéries isolées à partir de différents prélèvements biologiques ainsi que de déterminer leur profil de résistance vis-à-vis aux antibiotiques testés et d'évaluer la prévalence des entérobactéries multi résistantes. Un total de 137 souches d'entérobactéries est retrouvées dans les différents prélèvements analysés provenant des différents services, le taux de résistance est très élevé aux principales familles d'antibiotiques, les carbapénèmes et l'amikacine étaient les antibiotiques les plus efficaces sur ces entérobactéries. La production de B-lactamase à spectre élargi est notée chez 20% des souches d'entérobactéries, parmi les espèces identifiées, on a trouvé majoritairement *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence de 29% suivi par *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* avec un taux de 25% et 21% respectivement. Les E-BLSE isolées dans notre étude sont majoritairement d'origine hospitalière avec un taux de 86%. La production de carbapénémase est notée chez 5% des souches d'entérobactéries, les espèces les plus fréquentes sont *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* avec une prévalence de 29%, Les EPC sont essentiellement d'origine hospitalière.

Mots clés : Infection bactérienne, Entérobactéries, Multirésistante, Béta-lactamase, Carbapénémase.

Abstract

Emerging multi-resistant and highly resistant bacteria represent a public health problem, and the management of infections caused by these strains is a priority due to the risk of therapeutic impasse. Among the germs responsible for bacterial infections are Enterobacteriaceae, one of the main families of Gram-negative bacilli. Enterobacteriaceae play a crucial role in human pathology, due to the diversity of their bacterial species and their impact on public health. They are responsible for a wide range of serious and potentially fatal infections, including meningitis, urinary tract infections, gastroenteritis and respiratory infections. Our pro-retrospective study, carried out in the bacteriology unit of the central laboratory of UHC Beni Messous in Algiers, aims to isolate and identify the most common bacterial pathogens. The aim was to isolate and identify strains of enterobacteria from various biological samples, to determine their resistance profile to the antibiotics tested, and to assess the prevalence of multi-resistant enterobacteria. A total of 137 strains of Enterobacteriaceae were found in the various samples analyzed from different departments, with very high rates of resistance to the main families of antibiotics. Carbapenems and amikacin were the most effective antibiotics against these Enterobacteriaceae. Extended-spectrum B-lactamase production was noted in 20% of enterobacterial strains. Among the species identified *Klebsiella pneumoniae* was predominant, with a frequency of 29%, followed by *Enterobacter cloacae* and *Escherichia coli* with rates of 25% and 21% respectively. The E-BLSEs isolated in our study were mainly of hospital origin, with a rate of 86%. Carbapenemase production was noted in 5% of enterobacterial strains, the most frequent species being *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* with a prevalence of 29%. EPCs are essentially of hospital origin.

Key words : Bacterial infection, Enterobacteriaceae, Multiresistant, Beta-lactamase, Carbapenemase.

ملخص

تمثل البكتيريا متعددة المقاومة والمقاومة للغاية مشكلة للصحة العامة، ويمثل تدبير العدوى التي تسببها هذه السلالات، قضية ذات أولوية بسبب مخاطر الفشل العلاجي. من بين الجراثيم المسؤولة عن الالتهابات البكتيرية، البكتيريا المعوية التي تمثل واحدة من العائلات الرئيسية للعصيات سالبة الجرام. تحتل البكتيريا المعوية حيزاً كبيراً في علم الأمراض البشرية بسبب تنوع السلالات البكتيرية التي تتكون منها وتأثيرها على الصحة العامة وهي مسؤولة عن مجموعة واسعة من الالتهابات الخطيرة والمميتة، بما في ذلك التهاب السحايا والتهابات المسالك البولية والتهاب المعدة والأمعاء والتهابات الجهاز التنفسي. أجريت دراستنا الاستباقية والاستعادية في وحدة علم الجراثيم في المختبر المركزي للمركز الاستشفائي الجامعي لبنى مسوس، تهدف الدراسة إلى عزل وتحديد سلالات البكتيريا المعوية المأخوذة من عينات بيولوجية مختلفة وكذلك تحديد مقاومتها المختبرة للمضادات الحيوية وتقييم مدى انتشار البكتيريا المعوية متعددة المقاومة. تم العثور على مجموعة 137 سلالة من البكتيريا المعوية في العينات المختلفة التي تم تحليلها من المصالح المختلفة، ومعدل المقاومة كان مرتفعاً جداً للعائلات الرئيسية للمضادات الحيوية. الكاربينام والاميكاسين كانت أكثر المضادات الحيوية فعالية على هذه البكتيريا المعوية. البيتا لاكتاماز ذو الطيف الموسع في 20% من السلالات المعوية البكتيرية من بين الأنواع المحددة وجدنا بشكل رئيسي الكليبسيلة الرئوية بتردد 29% تليها البكتيريا المعوية المذرقية والبكتيريا الاشريكية القولونية بمعدل 25% و 21% على التوالي البيتا لاكتاماز ذو الطيف الموسع المعزول في دراستنا هو في الأساس من أصل استشفائي بمعدل 86 انتاج الكاربيناماز لوحظ في 5% من السلالات المعوية البكتيرية وأكثر الأنواع شيوعاً هي الكليبسيلة الرئوية والبكتيريا المعوية المذرقية مع انتشار 29% البكتيريا المعوية المنتجة للكاربيناماز هي في الأساس من أصل استشفائي.

الكلمات المفتاحية: عدوى بكتيرية، بكتيريا معوية، مقاومة متعددة، بيتا لاكتاماز، كاربيناماز.

Liste des figures

Figure 01 : Mécanismes d'action des antibiotiques.....	05
Figure 02 : Résultats de coloration de gram.....	25
Figure 03 : Résultats de l'identification par galerie classique	26
Figure 04 : Répartition des entérobactéries selon la nature de prélèvements	33
Figure 05 : Répartition des entérobactéries selon l'espèce bactérienne	33
Figure 06 : Profil de résistance d' <i>Escherichia coli</i> chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.....	35
Figure 07 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>Escherichia coli</i>	36
Figure 08 : Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.....	37
Figure 09 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
Figure 10 : Profil de résistance d' <i>Enterobacter cloacae</i> chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.....	38
Figure 11 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>Enterobacter cloacae</i>	38
Figure 12 : Profil de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.....	39
Figure 13 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>Proteus mirabilis</i>	39
Figure 14 : Profil de résistance des autres entérobactéries chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.....	40
Figure 15 : Résultats des tests complémentaires pour la recherche de BLSE.....	40
Figure 16 : Répartition des entérobactéries productrices de BLSE positives par services.....	41
Figure 17 : Répartition des entérobactéries productrices de BLSE par espèce bactérienne....	41
Figure 18 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries BLSE (+)...	42
Figure 19 : Résultats des tests complémentaires pour la recherche de production de carbapénèmases.....	42
Figure 20 : Résultats des tests complémentaires	43
Figure 21 : Répartition des entérobactéries productrices de carbapénèmases positives par services.....	43
Figure 22 : Répartition des entérobactéries productrices de carbapénèmase par espèce bactérienne.....	44
Figure 23 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrice de carbapénèmase.....	44

Figure 24 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *Escherchia coli* productrice de carbapénèmase.....45

Liste des tableaux

Tableau I : Antibiotique, cible et mécanisme de résistance.....	07
Tableau II : Les différents types des prélèvements respiratoires.....	15
Tableau III : Total de prélèvements recueillis au niveau de différents services.....	25
Tableau IV : Résultats des tests de catalase et ‘oxydase.....	26
Tableau V : Résultats d’identification d’ <i>Escherichia coli</i>	27
Tableau VI : Résultats de l’identification de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	28
Tableau VII : Résultats de l’identification d’ <i>Enterobacter cloacae</i>	29
Tableau VIII : Résultats de l’identification de <i>Proteus mirabilis</i>	30
Tableau IX : Résultats de l’identification de <i>Salmonella enteritidis</i>	31
Tableau X : Résultats de l’identification de <i>Serratia liquefaciens</i>	32
Tableau XI : Répartition des entérobactéries à partir de divers prélèvements biologiques.....	34

Liste des abréviations

ADH : Arginine déshydrogénase.

API 20^E : Analytical Profile Index 20 (E= Entérobactéries)

AST : Antimicrobial susceptibility testing.

ATCC : American type culture Collection.

BGN : Bacilles à Gram négatif.

BHIB : Brain heart infusion.

BLSE : Béta-lactamase à spectre élargi.

C3G : Céphalosporines de troisième génération.

CIT : Citrate.

CLSI : Clinical Laboratory Standards Institute.

CTX-M : Céfotaximase-munich.

DO : Densité optique.

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

ECBC : Examen cytobactériologique des crachats.

ECBU : Examen cytobactériologique des urines.

EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique.

EPC : Entérobactéries productrice de carbapénémase.

ERG : *Enterococcus faecium* Résistant aux glycopeptides.

GSC : Gélose au sang cuit.

GSF : Gélose au sang frais.

GEL : Gélatinase.

GN : Gélose nutritif.

H₂S : Thiosulfate de sodium.

I : Intermédiaire.

IND : Indole.

LDC : Lysine décarboxylase.

LPS : Lipopolysaccharides.

mCIM : Modified carbapenem inactivation method.

MF : Mc Farland.

MH : Muller Hinton.

MGG : May-Grünwald Giemsa.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ONPG : L'orthonitrophényl- β -galactoside (ou 2-nitrophényl- β -D-galactopyrannoside).

PDP : Prélèvement distal protégé.

R : Résistant.

S : Sensible.

SHV : Sulfhydrile variable

TEM : Temoneira-nom de patient

TDA : Tryptophane désaminase.

TSI : Triple sugar iron.

IU : Infection urinaire.

ID : Identification.

URE : Urée.

VP : Voges-Proskauer.

Abréviations des antibiotiques

AK : Amikacine.

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique.

AMP : Ampicilline.

ATM : Aztréonam.

CAZ : Céfotaxime.

CHL : Chloramphénicol.

CN : Gentamicine.

CIP : Ciprofloxacine.

COL : Colistine.

CPO : Cefpirome

CRO : Ceftriaxone.

CTX : Céfotaxime.

CZ : Céfazoline.

ETP : Ertapénème.

F/M : Furane.

FOS : Fosfomycine.

FOX : Céfoxitine.

IPM : Imipénème.

MEM : Méropénème

NA : Acide nalidixique.

OFX : Ofloxacine.

TEM : Témocilline

SXT : Cotrimoxazole : Triméthoprim + sulfaméthoxazol.

Table des matières

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Chapitre I. Synthèse bibliographique	
I.1.Généralité sur les entérobactéries	02
I.1.1.Définition et caractéristiques générales	02
I.1.2.Classification.....	02
I.1.3.Habitat.....	02
I.1.4.Pouvoir pathogène.....	03
I.1.4.1.Pathogène opportuniste.....	03
I.1.4.2.Pathogène spécifique.....	03
I.1.5.Principales Enterobacterales d'intérêt cliniques.....	03
I.1.5.1.Famille des <i>Entérobacteriaceae</i>	03
I.1.5.2.Famille des <i>Yersinaiceaea</i>	04
I.1.5.3.Famille des <i>Morganellaceae</i>	04
I.2. Antibiotique et antibiorésistance.....	04
I.2.1.Antibiotique.....	04
I.2.2.Classification et mode d'action.....	04
I.2.3.Résistance des entérobactéries	05
I.2.3.1.Définition	05
I.2.3.2.Types de la résistance bactérienne	05
I.2.4.La résistance aux principaux antibiotiques.....	06
I.2.4.1.La résistance aux béta lactamine.....	06
I.2.4.2.La résistance aux aminosides.....	06
I.2.4.3.La résistance aux fluoronquinolones.....	06
I.2.4.4.La résistance aux autres classes d'antibiotiques actifs sur les entérobactéries.....	06
I.3.les entérobactéries multi résistantes.....	08
I.3.1.Epidémiologie.....	08

I.3.2. Définition des bactéries multirésistantes (BMR).....	08
I.3.3.Définition des bactéries hautement résistantes émergentes(BHRe).....	08
I.3.4.Les entérobactéries productrices de bêta lactamase	08
I.3.4.1.Définition de BLSE.....	08
I.3.4.2.Différent type de BLSE.....	09
I.3.5.Les entérobactéries productrices de carbapénèmase	09
I.3.5.1.Définition de EPC	09
I.3.5.2.Différents types des entérobactéries productrice de carbapénèmase.....	10

Chapitre II .Matériel et méthodes

II.1.Matériel	11
II.1.1.Matériel biologique.....	11
II.1.2.Matériel non biologique.....	11
II.2.Méthodes.....	11
II.2.1.Types de prélèvements.....	11
II.2.2.Méthodes d'isolements à partir des produits pathologiques.....	11
II.2.3.Démarche de l'étude cyto bactériologique de divers prélèvements.....	12
II.2.3.1. Urine.....	12
II.2.3.2. Coproculture.....	13
II.2.3.3.Hémoculture.....	13
II.2.3.5. Liquides de ponction.....	14
II.2.3.6 Cathéter.....	15
II.2.3.7. Prélèvement respiratoire	15
II.2.3.8. Pus.....	17
II.2.4. Appréciation macroscopique.....	18
II.2.5. Purification.....	18
II.2.6. Identification bactérienne.....	18
II.2.6.1.Identification biochimique Galerie Api 20 E (galerie miniaturisée).....	18
II.2.7. Test de sensibilité aux antibiotiques.....	18
II.2.7.1. Antibiogramme par diffusion des disques.....	19
II.2.7.2. Test complémentaire.....	20
II.2.8. Méthodes automatisées.....	23
II.2.8.1. Le système d'identification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques automatisés BD Phoenix	23

Chapitre III. Résultats et discussion

III.1. Résultats	25
III.1.1. Données microbiologiques	25
III.1.1.1. Résultats de l'identification.....	25
III.1.2. Données épidémiologiques	33
III.1.2.1. Répartitions des entérobactéries selon la nature de prélèvement.....	33
III.1.2.2. Répartition des entérobactéries selon l'espèce bactérienne	33
III.1.2.3. Répartition des entérobactéries isolées à partir de divers prélèvements biologiques	34
III.1.3. Profil d'antibio1résistance des entérobactéries	35
III.1.3.1. Nombre et taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i>	35
III.1.3.2. Nombre et taux de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	36
III.3. Nombre et taux de résistance d' <i>Enterobacter cloacea</i>	38
III.1.3.4. Nombre et taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i>	39
II.1.3.5. Nombre et taux de résistance des entérobactéries les moins fréquents	40
III.1.4. Répartition des souches d'entérobactéries BLSE (+).....	40
III.1.4.1. Répartition des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon le service	41
III.1.4.2. Répartition des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon l'espèce bactérienne.....	41
III.1.4.3. Profil de résistance globale aux antibiotiques des souches d'entérobactéries BLSE(+).	41
III.1.5. Répartition des souches d'entérobactéries selon la production de carbapénèmase.....	42
III.1.5.1. Répartition des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase par service.....	43
II.1.5.2. Répartition des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase selon l'espèce bactérienne.....	44
III.1.5.3. Profil de résistance globale aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase.....	44
III.21 Discussion.....	45
Conclusion.....	54
Références bibliographiques.....	55
Annexe.....	59

Introduction

Introduction

Les entérobactéries occupent une place importante en pathologie infectieuse. Ces dernières représentent l'une des groupes les plus fréquemment isolé en milieu hospitalier, causant des infections nosocomiales ou communautaires. Elles sont souvent incriminées dans les infections urinaires, des plaies opératoires, d'infections pulmonaires et des septicémies. **(Ferkas et al., 2019)**

Due à la pression de la sélection impliquée par l'utilisation accrue des antibiotiques, une variété de mécanisme de résistance a émergé à la suite de la mobilisation et du transfert horizontal d'une large gamme de gènes de résistance aux antibiotiques. Ces gènes confèrent aux bactéries une résistance remarquable à plusieurs familles d'antibiotiques **(Khodare et al., 2020; Alcock et al., 2019)**. Ces bactéries sont dites Bactéries Multi Résistantes (BMR) Lorsqu'elles développent une résistance à trois classes d'antibiotiques ou plus simultanément utilisées dans le traitement clinique par des mécanismes intrinsèque et extrinsèque **(Giuffrè et al., 2016)**.

Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) confèrent la résistance à l'ensemble des bêta-lactamines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes en plus d'une résistance associée à d'autres familles d'antibiotiques. Ils existent trois grandes classes de BLSE : les TEM, les SHV et les CTX-M **(Sbiti et al., 2017)**.

Les plupart des entérobactéries productrices de carbapénémases confèrent une résistance à de très nombreuses β lactamines, ils appartiennent aux trois classes d'Ambler : A(KPC), B (métales enzymes de type NDM, VIM, IMP) et D (OXA-48) **(Nordmann et al., 2013)**.

L'émergence et l'augmentation potentielle de souches d'entérobactéries multirésistantes constituent un phénomène inquiétant. La détection de ces souches n'est pas seulement importante pour le patient mais également dans le cadre de la surveillance des infections nosocomiales **(Goro, 2021)**.

Dans le but de prévenir l'échec thérapeutique et de diminuer le risque de mortalité, notre étude a porté sur l'étude de la résistance aux antibiotiques de quelques souches hospitalières et communautaires d'entérobactéries isolées à partir des prélèvements pathologiques divers dans l'unité de bactériologie de laboratoire central de CHU Béni Messous d'Alger .Les objectifs que nous nous sommes fixés sont :

- Isolement et identification des souches d'entérobactéries à partir des prélèvements effectués.
- Evaluer leur prévalence aux antibiotiques.
- Tester leur sensibilité et résistance vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotique par la méthode de diffusion de disque et/ou CMI.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

I. Généralité sur les entérobactéries

I.1. Définition et caractéristique générales

Les entérobactéries constituées des genres bactériens qui sont rassemblés en raison de caractères bactériologiques communs. Ce sont des bacilles à gram négatifs le plus souvent courts (1 à 6 μm) non sporulées. Elles peuvent être mobiles par ciliature péritriche ou immobiles et se développent en aéro-anaérobiose sur milieu nutritif. Elles acidifient le glucose par voie fermentaire avec souvent production de gaz, Elles sont dépourvues d'oxydase, possèdent une catalase et réduisent les nitrates en nitrites (**Denis et al., 2016**).

Les entérobactéries se définissent par des antigènes somatiques O ou antigènes de paroi composés de lipopolysaccharide (LPS) thermostable. Elles possèdent un antigène capsulaire K ou antigène d'enveloppe de nature polysaccharidique. Les autres entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes flagellaires H composé de flagelline thermolabile. L'antigène de Kunitz ou Enterobacteriaceae Common Antigen (ECA) constitué d'un glycophospholipide qui présente un intérêt taxonomique et l'antigène d'adhésions (pili, fimbriae) (**Denis et al., 2016**).

I.2. Classification

Les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène très importante, ce sont des Eubactéries, appartiennent à l'embranchement des Proteobacteria, la classe des Gammaproteobacteria, à l'ordre des Enterobacteriales (**Grosjean et al., 2016**).

Sur la base des résultats des études taxonomiques et phylogénétiques moléculaires basée sur les séquences du gène de l'ARNr 16S selon **Adeolu et al (2016)** l'ordre Enterobacteriales a été remplacé par le nom Enterobacterales qui devrait éventuellement être divisés en sept familles : (*Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae* et *Budviciaceae*) (**Janda et al., 2021**).

I.3. Habitat

Ce groupe des bactéries est usuellement rencontrées en bactériologie médicale. Ce sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état pathogène, soit à l'état commensal. On les retrouve également dans certain niches écologique différents de l'environnement (sols, eau, végétaux, aliments) (**Dembélé, 2020**).

1.4. Pouvoir pathogène

I.4.1. Pathogènes opportunistes

Les bactéries pathogènes opportunistes peuvent provenir de la flore digestive commensale normalement résidente. Elles se rencontrent principalement en milieu hospitalier ; elles sont responsables d'infections nosocomiales (Infections urinaires, pneumonies, infections de plaies et septicémie) (Bouskraoui et al., 2017).

I.4.2. Pathogènes spécifiques

Les bactéries pathogènes spécifiques que l'on ne retrouve pas à l'état commensal. Dès qu'elles sont retrouvées dans l'organisme sont responsables d'infections plus ou moins graves comme : *Salmonella typhi* responsable de la fièvre typhoïde et *Yersinia pestis* responsable de la peste (Bouskraoui et al., 2017).

I.5. Principales Enterobacterales d'intérêt clinique

I.5.1. Famille des *Entérobacteriaceae*

I.5.1.1. *Escherichia coli*

Egalement connue « colibacille », c'est une bactérie de tractus intestinale humain et animal. Elle est l'une des espèces bactériennes les plus impliquées dans les maladies infectieuses. Elle est responsable de pathologies intestinales à type de diarrhée. De plus, certaines souches sont impliquées dans plusieurs infections extra-intestinales importantes de l'homme telles que les infections urinaires, abdominales et méningées (Gadou, 2019).

I.5.1.2. *Klebsiella pneumoniae*

C'est une bactérie immobile encapsulée, l'une des espèces les plus pertinentes sur le plan clinique chez les personnes immunodéprimées, responsable d'infections communautaires et nosocomiales, notamment des pneumonies, d'infections urinaires, de bactériémies et d'abcès du foie (Namikawa et al., 2023).

I.5.1.3. *Enterobacter spp.*

Il est fréquemment présent chez les patients hospitalisés, en particulier chez ceux qui reçoivent un traitement antibiotique. Il est impliqué dans des épidémies nosocomiales et considéré comme des agents pathogènes opportunistes (Davin-Regli et al., 2019).

I.5.1.4. *Citrobacter spp.*

C'est un agent pathogène nosocomial opportuniste qui entraîne des infections des voies urinaires, des bactériémies, des sepsis abdominaux, des abcès cérébraux, des pneumonies et d'autres infections néonatales (Gadou, 2019).

Synthèse bibliographique

I.5.1.5. *Salmonella* spp.

C'est un agent pour la plupart pathogène pour l'homme, responsable de nombreuses infections comme les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires et qui sont à déclaration obligatoire (**Goro, 2021**).

I.5.1.6. *Shigella* spp.

C'est un agent pathogène entérique hautement transmissible .Elle est responsable de diarrhées sévères, et de dysenterie bacillaire appelée shigellose (**Shabani et al., 2022**).

I.5.2. La famille des *Yersiniaceae*

I.5.2.1. *Serratia* spp.

C'est un agent pathogène nosocomial opportuniste répandu dans l'environnement provoquant diverses infections, telles que des infections des voies urinaires, des bactériémies et parfois même des épidémies hospitalier (**khanna et al., 2013**).

I.5.3. La famille des *Morganellaceae*

I.5.3.1. *Proteus, Morganella, Providencia*.

Ce sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux, Ils provoquent des infections très diverses : entérites, cystites, otites, méningites. Ils possèdent un « tryptophane désaminase », ils ont la particularité d'envahir la surface des milieux gélosés solides (**El bouamari, 2017**).

I.2. Antibiotiques et antibiorésistance

I.2.1. Antibiotique

Les antibiotiques sont des molécules chimiques ou synthétiques capables de détruire les microorganismes (effet bactéricide) ou inhiber leurs croissances (effet bactériostatique) sans exercer des effets toxiques pour les organismes supérieurs (**Chouh et al., 2019**).

I.2.2. Classification et mode d'action

La classification des antibiotiques peut se faire selon leur origine (naturelle ou de synthèse), leur mécanisme d'action sur la bactérie, leur spectre d'activité ou encore leur nature chimique. Les principaux mécanismes d'action que l'on peut rencontrer diffèrent selon la molécule considérée. Ainsi, les antibiotiques peuvent agir entre autre sur : la paroi bactérienne, la membrane interne, le génome bactérien, la synthèse protéique ou la synthèse des folates (**Opatowski, 2020 ; Domoré et al., 2018**).

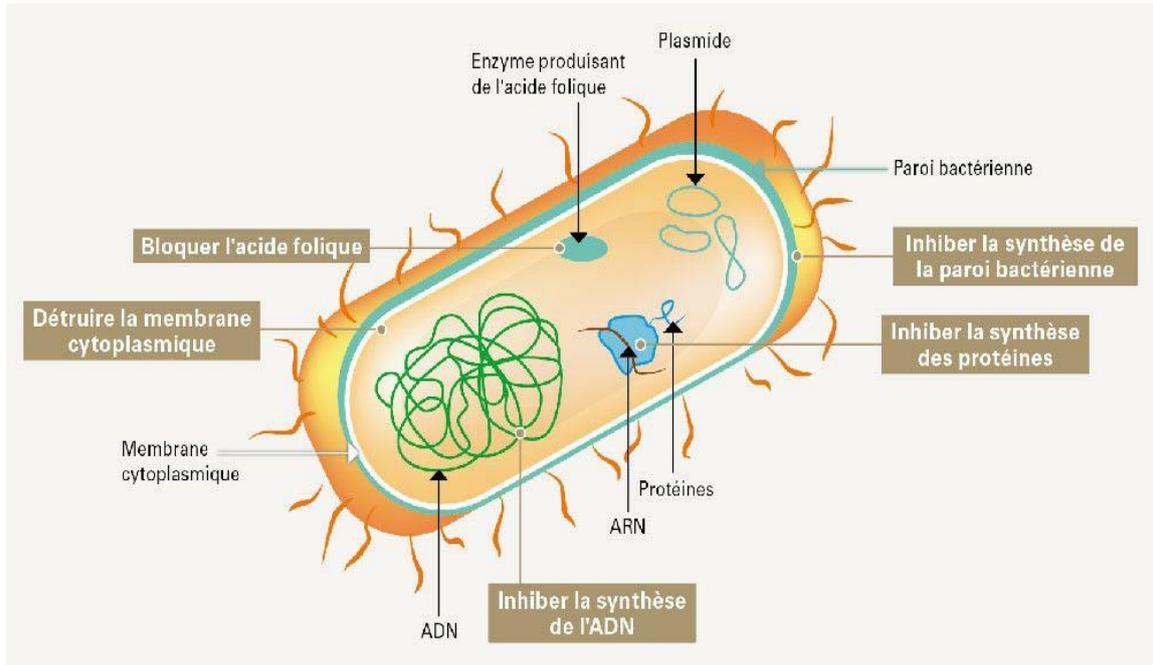


Figure 1 : Mécanismes d'action des antibiotiques (Guillet et Roset, 2022).

1.2.3. La résistance des entérobactéries aux antibiotiques

1.2.3.1. Définition

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration de cet antibiotique notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la plupart des souches appartenant à la même espèce bactérienne (Dembélé, 2021). La résistance peut toucher toutes les familles d'antibiotiques habituellement actives sur les entérobactéries (Necib *et al.*, 2019).

1.2.3.2. Types de la résistance bactérienne

❖ La résistance naturelle (ou intrinsèque)

C'est la résistance de toutes les souches d'une même espèce bactérienne à un antibiotique donné. Elle correspond à l'existence d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance innés, héréditaires et transmissibles verticalement à la descendance (Garder Martin *et al.*, 2019).

❖ La résistance acquise

Cette forme de résistance procède de l'acquisition d'un ou de plusieurs nouveaux gènes de résistance. Elles sont obtenues soit par mutation chromosomique soit par l'acquisition des gènes étrangers véhiculés par des plasmides, des transposons ou des intégrons qui se fait

Synthèse bibliographique

par 3 mécanismes : conjugaison, transformation ou transduction. Elle peut être transmise horizontalement d'une bactérie à une autre, de la même espèce ou d'espèces différentes **(Sadikalay, 2018)**.

I.2.4.La résistance aux principaux antibiotiques

I.2.4.1.La résistance aux bêta lactamine

Certaines souches d'entérobactéries peuvent résister naturellement à diverses bêta lactamines, d'autres possèdent des mécanismes de résistance acquise .La production de β -lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines, les autres mécanismes qui permettent aux bactéries de contrecarrer l'action des antibiotiques sont la diminution de la perméabilité, modification de la cible et l'hyperproduction de système d'efflux **(Boutaibi benkalouz, 2023)**.

I.2.4.2.La résistance aux aminosides

La modification enzymatique des aminosides est le mécanisme de la résistance acquise le plus fréquent. Ces enzymes sont codés par des gènes plasmidiques qui peuvent atteindre tout ou partie des aminosides. Les autres mécanismes de la résistance sont l'imperméabilité cellulaire et l'altération de cible ribosomale par mutation chromosomique **(Goro, 2021)**.

I.2.4.3.La résistance aux fluoronquinolones

La résistance acquise aux quinolones, dont le support génétique est exclusivement chromosomique (mutations), est due à deux mécanismes qui peuvent être associés : modification de la cible et/ou diminution de la perméabilité **(Delville, 2021)**.

I.2.4.4.La résistance aux autres classes d'antibiotiques actifs sur les entérobactéries

Les entérobactéries habituellement résistantes aux macrolides sont sensibles aux phénicoles, tétracyclines, sulfamides, trimethoprime, nitrofuranes, fosfomycine et polymyxine (colistine).Cependant la plupart des espèces de *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* et *Serratia* sont résistantes aux tétracyclines, nitrofuranes et polymyxine. Elles peuvent devenir résistantes (résistante acquise) à un ou plusieurs de antibiotiques par mutations chromosomiques ou acquisition de plasmides de résistance **(Goro, 2021)**.

Synthèse bibliographique

Tableau I : Antibiotique, cible et mécanisme de résistance.

Mode d'action	Familles	Exemple de molécule	Mécanisme de résistance
Inhibition de la synthèse de la paroi	*Béta-lactamine (groupe de la pénicilline, céphalosporine et carbapénème) *Glycopeptide. *Fosfomycine.	*Pénicilline. *Méticilline. *Ampicilline. *Vancomycine. *Fosfomycine.	*Production d'enzyme (les béta lactamases). *Augmentation de l'efflux (efflux actif). *Modification de la cible PLP (faible affinité).
Inhibition de la synthèse protéique	*Aminoside. *Macrolide. *Tétracycline. *Chloramphénicol.	*Gentamycine *Streptomycine *Oxytétracycline *Chlortétracycline *Erythromycine. *Clindamycine. *Chloramphénicol.	*Modification de la cible. *Résistance par Inactivation enzymatique. *Résistance par Efflux *Diminution de l'accumulation intracellulaire de l'antibiotique.
Inhibition de la synthèse d'acide nucléique.	*Quinolone. *Rifamycine.	*Acide nalidixique *Ciprofloxacine *Levofloxacine *Rifamycine ,Rifacilline	*Modification de la cible *Modification de l'efflux de l'ATB *Diminution de la perméabilité membranaire.
Inhibition de la synthèse de la membrane cytoplasmique.	*Polymyxine	*Polymyxine B	*Altération de la cible et/ou diminution de la perméabilité

Synthèse bibliographique

Inhibition de la synthèse des folates.	*Sulfamide. *Triméthoprim.	*Sulfaméthoxazole *Sulfisoxazole *triméthoprim en association avec sulfaméthoxazole	*Modification de la cible (faible affinité).
--	-------------------------------	---	--

(Opatowski, 2020 ; Goro ,2021)

I.3.Les entérobactéries multirésistantes

I.3.1.Epidémiologie

Les entérobactéries multirésistantes sont apparues initialement dans les années 1980, après l'utilisation généralisée des céphalosporines et d'autres bêta-lactamines à large spectre. Les SHV et TEM ont été parmi les premières BLSE trouvées suivies de CTX-M (Mhaya, 2016).

L'émergence des différentes entérobactéries productrices de carbapénèmases sont de plus en plus répandues dans différents pays dont la prévalence croissante a été signalée dans le monde (Boivin et al., 2016).

I.3.2.Définition des bactéries multirésistantes (BMR)

Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques lorsque du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (résistance à plus de 3 familles différentes) (Veysiere, 2019).

1.3.3. Définition des bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe)

Les BHRe sont des bactéries commensales du tube digestif et résistantes aux nombreux antibiotiques. De plus, les mécanismes de résistance sont plasmidiques et transférables).Elles correspondent aux Entérobactéries Productrices de Carbapénèmases (EPC) et à *Enterococcus faecium* Résistant aux Glycopeptides (ERG). Le développement de ces résistances pourrait conduire à terme à des impasses thérapeutiques (Bouhafs et al., 2019).

I.3.4.Les entérobactéries productrice de β –lactamase à spectre étendu (E-BLSE).

I.3.4.1.Définition des BLSE

C'est le mécanisme prédominant de la résistance aux bêta lactamines chez les entérobactéries. Les BLSE confèrent donc une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines à l'exception des céphamycines (céfoxitine et céfotétan) et des carbapénèmes (imipénème)

Synthèse bibliographique

(Kansaye, 2020). Ils sont également inhibés par les inhibiteurs de la bêta-lactamase comme l'acide clavulanique, sulbactam et tazobactam (Veysièrè, 2019).

I.3.4.2. Différents types des BLSE

Les BLSE sont classées selon leurs différences moléculaires et les plus fréquentes sont les BLSE de types TEM, SHV et CTX-M (Gadou, 2019).

❖ BLSE de type TEM (Temoneira)

La première bêta-lactamase plasmidique de type TEM a été isolée à partir d'une souche d'*Escherichia coli* isolée chez un patient nommée Temoneira. Des nombreux dérivés de TEM ont été décrits à ce jour. Les BLSE de ce type sont le plus souvent produites par *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Boutaïbi benkalouz, 2023).

❖ BLSE de type SHV (Sulfhydril Variable)

La majorité des BLSE de type SHV sont très fréquentes chez *Klebsiella pneumoniae*. Les BLSE de ce type ont été détectés parmi de nombreuses entérobactéries (notamment *K. pneumoniae*) mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp* (Mhaya, 2016).

❖ BLSE de type CTX-M (Cefotaximase-Munich)

Les CTX, d'où leur nom, se caractérise par leur activité hydrolytique potentielle sur le céfotaxime. Les BLSE de type CTX-M ont disséminé largement dans le monde, leur diffusion rapide a fait que les enzymes de ce type représentent aujourd'hui les BLSE les plus fréquentes au niveau mondial, elles diffèrent des autres types par le fait qu'elles sont plus fortement inhibées par le tazobactam que l'acide clavulanique (Lagha, 2015).

❖ Autres BLSE

D'autres BLSE ont une distribution moins large, caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam plutôt qu'au céfotaxime. Ce sont : BES-1 (*brazilian extended spectrum*), GES-1 (*Guyana extended spectrum*), PER-1 (*Pseudomonas extended resistance*), SFO-1 (*Serratia fonticola*), TLA-1 (Tlahuicas, tribu mexicaine) et VEB-1 (*Vietnam extended spectrum*) (Meziani et al., 2021).

I.3.5. Les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC)

I.3.5.1. Définition d'EPC

La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes peut résulter de différents mécanismes. La production de carbapénémase constitue le plus puissant mécanisme de résistance des entérobactéries aux carbapénèmes, la plupart des carbapénèmases confèrent une

résistance à de très nombreuses autres β lactamines et leurs gènes sont habituellement associés à des gènes de résistance aux aminosides, dans des souches souvent résistantes aux fluoroquinolones (**Maamar et al., 2019**).

I.3.5.2. Différents types des entérobactéries productrices de carbapénèmase

Les carbapénèmases produites par les entérobactéries appartiennent aux trois classes connues de bêtalactamases (classe A, B et D de la classification de Ambler) (**Tidrarine, 2019**).

❖ Bêta-lactamases de la classe A d'Amblar

Ce groupe comprend les « pénicillinases inhibées par l'acide clavulanique ». Les KPC sont les plus répandues et responsables essentiellement d'infections systémiques nosocomiales. Elles ont été largement rapportées chez *Klebsiella pneumoniae* et d'autres entérobactéries, également ont été identifiées chez d'autres agents pathogènes à Gram négatif. Ces enzymes possèdent un large spectre d'activité semblable à celui des BLSE avec une activité étendue vis-à-vis des carbapénèmes (**Mhaya, 2016**).

❖ Bêta-lactamases de la classe B d'Amblar

Ils sont couramment identifiés chez les entérobactéries, ils comprennent la Métallo- β -lactamase de New Delhi (NDM), la Métallo- β -lactamase codée par l'Intégron de Verona (VIM) et les enzymes Impénemase Métallo- β -lactamase (IMP) sont les plus fréquemment identifiées dans le monde. Les MBL hydrolysent toutes les bêta-lactamines, à l'exception de l'aztréonam. (**Rahmani et al., 2023**).

❖ Bêta-lactamases de la classe D d'Amblar

Les β -lactamases acquises de classe D hydrolysant les carbapénèmes. L'OXA-48 et ses dérivés (par exemple, OXA-181 et OXA-232) ont été détectés chez les entérobactéries, hydrolysent les β -lactamines à spectre étroit et hydrolysent faiblement les carbapénèmes, mais n'hydrolysent pas de façon significative les céphalosporines de deuxième et troisième génération comme le céfotaxime et la céftazidime (**Mhaya, 2016**).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Notre travail consiste à étudier la résistance des entérobactéries durant une période de 4 mois, il porte sur des patients hospitalisés dans des différents services ainsi que certaines provenant des autres établissements hospitaliers et considérées comme externes. Réalisé dans l'unité de bactériologie au laboratoire central de CHU Isaad Hassani Béni Messous la wilaya d'Alger.

Il inclut une partie rétrospective qui s'est étalée sur une période de 04 mois de 1 Janvier 2023 à 30 Avril 2023 et une autre étude prospective allant du 20 Février 2023 au 30 Avril 2023.

I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

Représenté par l'ensemble des souches d'entérobactéries qui ont été isolées à partir des différents produits pathologiques durant la période d'étude.

Les souches de références utilisées au cours de nos tests microbiologiques sont :

- ✓ une souche *Escherichia coli* ATCC 25933.
- ✓ une souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase,

I.1.2. Matériel non biologique

C'est le matériel classique utilisé au laboratoire de microbiologie. Il est représenté essentiellement par : les milieux de culture, les verreries, les appareillages, les réactifs et les disques d'antibiotiques (**Voir annexe I**).

I.2. Méthodes

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

I.2.1. Types de Prélèvements

L'étude a porté sur les souches isolées à partir de divers produits pathologiques (urine, selle, hémoculture, pus, liquide de ponction, cathéter, crachat, prélèvement distal protégé.). Ces prélèvements ont été effectués chez des patients adultes hospitalisés au niveau de différents services et d'autres prélèvements des patients externes qui ont été analysés au niveau du laboratoire central d'unité de bactériologie dans les différentes paillasses.

I.2.2. Méthodes d'isolements à partir des produits pathologiques

Le traitement des produits pathologiques diffère en fonction de la nature du prélèvement. Le prélèvement est une étape essentielle du diagnostic car c'est de sa qualité dépend l'analyse bactériologique. Il nécessite des conditions d'asepsie et de stérilité, qui doit

se faire en absence d'antibiothérapie, Le prélèvement doit être transporté le plus rapidement possible au laboratoire.

Pour tout prélèvement, il convient de s'assurer que le nom inscrit sur la fiche de renseignements est identique à celui mentionné sur le produit pathologique.

Les prélèvements sont reçus au laboratoire dans des tubes, des flacons et /ou pots stériles, des écouvillons et des seringues accompagnés d'une fiche de renseignement correctement remplie qui comporte :

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

I.2.3.Démarche de l'étude cyto bactériologique de divers prélèvements

I.2.3.1.Urines

Il permet de diagnostiquer une infection urinaire et d'identifier le germe responsable afin de recourir au traitement le plus efficace. Ces infections peuvent atteindre un ou plusieurs organes du système urinaire. Elles peuvent toucher la vessie (cystite), la prostate (prostatite), urètre (urétrite) et les reins (pyélonéphrite) (**Talha, 2021**).

L'examen macroscopique

Il consiste à visualiser l'aspect de l'échantillon par l'œil nu : la couleur (hématurie ou non), l'aspect (clair, trouble, hématique), l'odeur et la présence du sédiment (**Baraki Kone, 2020**).

L'examen microscopique

La numération cellulaire permet l'orientation du diagnostic .La numération se fait sur la cellule de malassez qui comporte deux étude :

- Etude quantitative qui consiste au dénombrement des leucocytes.
- Etude qualitative qui consiste à la recherche des hématies, des cellules épithéliales, des levures, des cristaux et la présence ou absence de bactéries (**Zaouia ,2020**).

Mise en culture

La méthode de l'anse calibrée

- ✓ A l'aide d'une anse de platine calibrée, ensemer 10µl d'urine en trois stries parallèles sur une gélose nutritive (GN) pour avoir des colonies bien isolées.

- ✓ Incuber les boîtes dans l'étuve à 37° C pendant 18 à 24 h (**Djennane et al., 2009**).

II.2.3.2.Coproculture

La coproculture vise à isoler un nombre limité d'espèces bactériennes considérées comme pathogènes au sein d'une flore complexe présente dans les selles, et qui sont responsables de maladies gastro-intestinales (**Mariani-Kurkdjian et al., 2016**).

Examen macroscopique

L'examen direct consiste à noter l'aspect et la consistance des selles : dure, molle, liquide, glaireuse, sanglante et la présence de pus.

Examen microscopique

L'état frais consiste à la recherche de la flore bactérienne (équilibre ou déséquilibre), les leucocytes, les hématies et les levures.

Mise en culture

1er jour :

- ✓ Préparer une suspension bactérienne à partir d'une noisette de selle et la mettre dans une quantité d'eau physiologique puis homogénéiser jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.
- ✓ Ensemencer une goutte de la suspension par la technique de quatre quadrants sur milieu Hektoen (marqué HKD) et l'incuber dans l'étuve pendant 24 h à 37°c.
- ✓ Verser quelques gouttes de la suspension dans un tube contenant 10 ml de bouillon d'enrichissement SFM additionné d'un disque (SFB) (marqué SFM1).

2ème jour :

- ✓ Ensemencer une goutte de SFM(I) sur milieu Hektoen I et l'incuber dans l'étuve pendant 24h à 37°c.
- ✓ Préparer un deuxième enrichissement en versant quelques gouttes du SFM I dans un autre bouillon d'enrichissement SFM additionné d'un disque de SFB (marqué SFM II).

3ème Jour :

- ✓ A partir de deuxième enrichissement SFM II ensemencer une gélose Hektoen II et l'incuber pendant 24h à 37°c.

I.2.3.3.Hémoculture

C'est la culture du sang circulant qui est normalement stérile devant tout syndrome infectieux dont on suspecte une septicémie, ou une bactériémie pour la mise en évidence de l'agent bactérien causal (**Koussa et al., 2019**).

Mise en culture

Les flacons d'hémoculture reçus au laboratoire sont incubés dans l'automate BD BACTEC™ FX40 pour la détection d'une culture bactérienne.

- ✓ Pour chaque flacon positif déposer une goutte de bouillon sur un point périphérique d'une boîte de GSF, GSC et HK.
- ✓ Ensemencer les boîtes suivant la méthode de quatre quadrants.
- ✓ Incuber les boîtes de GSC et GSF dans la jarre sous une atmosphère enrichie en CO₂ à 37°C pendant 24 à 48 h et le milieu HK dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

I.2.3.4.Liquides de ponction

Les prélèvements sont effectués par le clinicien dès les premiers signes cliniques ou radiologiques d'épanchement ou d'infection.

Les types des liquides de ponction :

- ✓ LCR (liquide céphalo rachidien).
- ✓ Liquide pleural.
- ✓ Liquide d'ascite.
- ✓ Liquide articulaire ou synovial.
- ✓ Liquide de dialyse péritonéale.
- ✓ Kystes.

Examen macroscopique

L'examen direct de liquide de ponction consiste à observer à l'œil nu l'aspect du liquide et à noter s'il est : clair, trouble, hématique, hémorragique, purulent, louche ou citrin.

Examen microscopique

Une analyse cytologique quantitative et qualitative en cellule de Mallassez sera effectuée afin d'énumérer les leucocytes (la réaction inflammatoire), la présence d'hématies, cellules épithéliales et visualiser la mobilité des bactéries et la présence ou l'absence des levures.

La coloration au bleu de méthylène ou au MGG, sont nécessaires pour les prélèvements de liquides de ponction qui permet d'observer la présence de polynucléaires et de lymphocytes et les différencier les uns des autres. (**Annexe II**)

Un enrichissement en bouillon cœur cerveau (BHIB) a été effectué pour l'analyse des liquides de ponction.

L'observation du bouillon d'enrichissement se fait après incubation de 24 h à 37°C .En cas de trouble, faire un repiquage sur milieu GSC.

Mise en culture

- ✓ A l'aide de l'anse de platine calibrée prélever 10 µl du liquide à analyser.
- ✓ Déposer une goutte de bouillon sur un point périphérique d'une boîte de GSF, GSC et HK.
- ✓ Ensemencer les boîtes suivant la méthode de quatre quadrants.
- ✓ Incuber le milieu de GSC et GSF dans la jarre sous une atmosphère enrichie en CO₂ à 37°C pendant 24 à 18 h et le milieu HK dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

I.2.3.5.Cathéter

C'est un dispositif médical qui se présente sous la forme d'un tube mince et flexible. Lorsqu'il est inséré dans une voie veineuse, il permet l'administration de traitements par voie intraveineuse et le prélèvement de sang pour les analyses, évitant ainsi la nécessité de fréquentes injections. On distingue deux types de cathéters : le cathéter central et le cathéter périphérique. (Desrumaux, 2022).

Mise en culture

- ✓ Faire passer 1 ml de l'eau physiologique dans le matériel et vortexer.
- ✓ A l'aide d'une anse de platine calibré stérile prélever 10µl du prélèvement et ensemencer les boîtes GSC, GSF et HK selon la méthode de quatre quadrants.
- ✓ Incuber les milieux de GSC et GSF dans la jarre sous une atmosphère enrichie en CO₂ à 37°C pendant 24 à 48 h et le milieu HK dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

I.2.3.6.Les prélèvements respiratoires

Ils sont répertoriés en deux types : prélèvements contaminés (la flore de l'oropharynx du patient) et prélèvements non contaminé.

Tableau II : Les différents types des prélèvements respiratoires.

Prélèvement contaminé	Prélèvement non contaminé
Expectoration	Prélèvement distal protégé (PDP)

a) Expectoration (crachats)

L'examen cyto bactériologique des crachats (ECBC) consiste à examiner les crachats d'une personne en cas d'infection respiratoire, afin de déterminer quels sont les germes en cause (Dahyot et al., 2017).

Examen macroscopique

Les caractéristiques générales des expectorations sont :

- L'aspect : muqueux (gelée) ; mucopurulent (avec des traces de pus) ; salivaire (fluide) ; fluide et purulent ; visqueux, adhérent.
- La couleur : rouille ; verdâtre ou jaunâtre ; rose à rouge si traces de sang.
- L'odeur : parfois désagréable en lien avec la présence de certaines bactéries.

Examen microscopique

Une coloration au bleu de méthylène permet d'évaluer le nombre des cellules épithéliales et les polynucléaires.

D'après les critères de Bartlett, Murray et Washington, les ECBC présentant un risque de contamination salivaire qui limite leur interprétation (le tableau d'interprétation figure dans l'annexe III).

Mise en culture

- ✓ A partir de prélèvement et à l'aide d'une anse de platine prélever 10µL de prélèvement (prélever la partie purulent pour éviter la contamination salivaire)
- ✓ Ensemencer le prélèvement directement sur gélose (GSF, GSC, HK) selon la méthode de quatre quadrants.
- ✓ Incuber le milieu de GSC et GSF dans la jarre sous une atmosphère enrichie en CO₂ à 37°C pendant 24 à 48 h et le milieu HK dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

b) Prélèvement distal protégé (PDP)

Ce prélèvement est réservé aux malades intubés et ventilés en service de réanimation, les sécrétions bronchiques sont aspirées avec un double cathéter protégé introduit dans l'arbre trachéo- bronchique puis placés dans un tube stérile (**Dahyot et al., 2017**).

Examen macroscopique

L'examen direct consiste à noter l'aspect : Clair, trouble, purulent ou hémorragique.

Examen microscopique

A partir du prélèvement, prélever une parcelle purulente, et l'étaler d'une façon homogène sur une lame propre, laissé sécher, puis fixer le frottis et colorer au bleu de méthylène. La lecture au microscope optique X 100.

- ✓ Numération de Polynucléaire par champ.
- ✓ Noter l'absence ou la présence de bactéries.

Mise en culture

- ✓ A l'aide de l'anse de platine ensemercer 10µl de la suspension sur les milieux (GSF, GSC, HK) par la méthode de quatre quadrants.
- ✓ Incuber les milieux GSC et GSF dans la jarre sous une atmosphère enrichie en CO₂ à 37°C pendant 24 à 48 h .et le milieu HK dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

I.2.3.7.Pus

Le pus est un liquide pathologique, épais et visqueux, constitué de globules blancs, altérés et détruits, de cellules des tissus voisins de la suppuration et souvent de bactéries, vivantes ou mortes. Il peut se présenter au cours d'infections superficielles (plaies, boutons, pustules, etc.) ou profondes (**Dumbia, 2022**).

Examen macroscopique

L'aspect macroscopique de l'échantillon constitue une information importante d'orientation à noter (hémorragique, purulent, présence d'égrains). On note la consistance, la couleur, l'aspect, l'odeur, ainsi que la viscosité du pus .

Examen microscopique

Pour les échantillons prélevés sur écouvillons, l'un d'entre eux est réservé à l'examen direct et les autres à la culture.

L'examen direct consiste à la recherche des leucocytes, des hématies, des levures et la présence ou absence des bactéries.

Une coloration au bleu de méthylène permet d'évaluer le nombre des lymphocytes et les polynucléaires.

Mise en culture

Les milieux sontensemencés par la technique de quatre cadrans sur les milieux HK, GSF et GSC :

- S'il s'agit d'un prélèvement par écouvillon, Ajouter un volume de bouillon d'enrichissement cœur cervelle (BHIB) rapidement aux prélèvements et agiter au vortex. Puis ensemercer le premier cadran de la boîte de Pétri par l'écouvillon lui-même et on termine l'ensemencement par une pipette Pasteur.
- S'il s'agit d'un prélèvement par seringue, déposer une goutte de pus à la périphérie de la boîte et ensemercer par pipette Pasteur .Un enrichissement en bouillon cœur cervelle (BHIB) a été effectué pour l'analyse des pus. L'observation du bouillon d'enrichissement se fait après incubation de 24 h à 37°C .En cas de trouble, faire un repiquage sur milieu GSC.

Les boîtes sont ensuite incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 h, à l'exception de celles contenant la GSC et GSF, qu'on les met avant dans une jarre avec une bougie (atmosphère enrichie en CO₂). La jarre est placée ensuite dans l'étuve pour laisser incuber les boîtes à 37°C pendant 24 à 48h.

I.2.4. Appréciation macroscopique

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

I.2.5. Purification

Lorsque les boites contiennent plusieurs types de colonies, on effectue une purification des souches en réalisant des repiquages successifs sur le même milieu d'isolement jusqu'à l'obtention d'un isolat pur présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu initialement (**Adoui et al., 2019**).

I.2.6. Identification bactérienne

L'identification des entérobactéries isolées à partir des divers prélèvements biologiques ont été basée sur :

- ✚ L'examen microscopique à l'état frais.
- ✚ La coloration de Gram.
- ✚ Les tests d'orientation : le test de catalase, le test d'oxydase.
- ✚ Quelques tests de la galerie biochimique classique comme :
 - ✓ La fermentation des sucres, la production de gaz et la formation H₂S sont testés par le milieu TSI.
 - ✓ La recherche de β galactosidase par le test d'ONPG.
 - ✓ L'étude de type respiratoire par le milieu citrate de simmons.
 - ✓ L'étude de voie fermentaire par le bouillon clark et lubs.

I.2.6.1. Identification biochimique des bactéries par la galerie d'Api 20 E

Le système Api 20E est une version miniaturisée et standardisée des tests biochimiques d'Enterobacteriaceae et d'autre bacille à Gram (-). La galerie Api 20 E comporte 20 microtubules contenant des substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatique ou de fermentation de sucre (**FT Api 20E, 2010**).

Technique

1. Préparation de l'inoculum

Préparer une suspension bactérienne de 0.5 Mc Farland (à partir de la boîte de gélose qu'on veut étudier).

2 .Inoculation de la galerie

- ✓ Introduire la suspension bactérienne dans les tubules de la galerie à l'aide d'une pipette pasteur tout en évitant la formation des bulles au fond des tubes.
- ✓ Pour les tests encadrés CIT, VP, GEL, remplir les tubules et les cupules. Pour les autres tests on ne remplit que les tubules.
- ✓ Pour les tests soulignés ADH, ODC, LDC, H₂S, URE, remplir les cupules avec de l'huile de vaseline pour créer une anaérobiose.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 24 heures.

3. Lecture de la galerie (Lecture après incubation)

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Konaré, 2018**).

I.2.7. Test de sensibilité aux antibiotiques

I.2.7.1. Antibiogramme par diffusion des disques

L'antibiogramme

C'est un outil indispensable dans le choix judicieux de l'antibiotique, il permet une prescription adaptée des antibiotiques en fonction du profil de la sensibilité de la bactérie isolée. L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité et la résistance d'une bactérie vis-à-vis des ATB (**Hnich, 2017**).

L'antibiogramme par diffusion est réalisé sur selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 8ème Edition 2020.

Milieu pour antibiogramme

C'est la gélose Mueller-Hinton. Elle doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.

Préparation de l'inoculum

Préparer une suspension bactérienne à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24h, son opacité doit être équivalente à 0.5 MF ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

✚ **Ensemencement**

- ✓ Ensemencer la surface gélosée, sèche de haut en bas, en stries serrées.
- ✓ Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- ✓ Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

✚ **Application des disques d'antibiotiques**

- ✓ Déposer chaque disque d'antibiotiques à l'aide d'une pince stérile et ne pas déplacer les disques après application (la liste des antibiotiques à tester pour les entérobactéries est reportée sur l'annexe V).
- ✓ Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures.

✚ **Lecture**

- ✓ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- ✓ Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- ✓ Classer la bactérie dans l'une des catégories **S**, **R** ou **I**.

I.2.7.2. Tests complémentaires

A) Recherche de la bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries

a) Test de synergie

✚ **Principe**

Il consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamases et un disque C3G (ceftriaxone, ceftazidime et cefotaxime) ou un monobactam (aztreonam). Cette image dite en bouchon de champagne est caractéristique de la présence de BLSE (**Mellouk, 2017**).

✚ **Technique**

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme

- ✓ Déposer un disque d'amoxicilline +acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30 mm centre à centre d'un disque de CTX (30 μ g) ou CRO (30 g) ou CPO (10 μ g) ou CAZ (30 μ g) ou ATM (30 μ g).
- ✓ Incuber pendant 16-18H à 35°C.

✚ **Lecture**

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie entre les disques AMC et CTX, AMC et CAZ, AMC et ATM, AMC et CRO, AMC et CPO.

b) Test du double disque (Test espagnol)

✚ Principe

Ce test devra être fait systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3^{ème} génération (Mellouk, 2017).

✚ Technique

Ce test se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.

- ✓ Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) à une distance de 30 mm (centre à centre).
- ✓ Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera couvercle vers le haut.
- ✓ Après 1 heure d'incubation, Ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX ou CRO(ou CAZ).
- ✓ Incuber la boîte 16-18 H à 35°C.

✚ Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G appliqué après diffusion du disque AMC est supérieur ou égale 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

B) Tests phénotypiques de détection de carbapénèmases

a) Test de Hodge modifié (MHT)

✚ Principe

La détection de la présence de carbapénèmases (classes A, B et D) est basée sur l'inhibition de l'activité des carbapénèmes vis-à-vis d'une souche indicatrice sensible (*E. coli* ATCC) lorsqu'elle est au contact d'une souche productrice de carbapénèmase (souche à tester). (CLSI, 2020).

✚ Technique

- ✓ Un inoculum de densité égale à 0.5 Mc Farland dilué au 1/10 de la souche *E. coli* ATCC 25922 estensemencé par écouvillonnage à la surface d'une gélose MH parfaitement sèche.
- ✓ Déposer au centre un disque d'ertapénème 10µg.
- ✓ Ensemencer les souches en stries radiales à partir de colonies.
 - Souche témoin positif *klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705.
 - Souche témoin négatif *Escherichia coli* ATCC 25922.

- Souche à tester.
- ✓ Incuber à 35°C pendant 16 à 20 heures.

Lecture

Le test est considéré positif lorsqu'on observe une repousse de la souche indicatrice le long de la strie de la souche à tester.

b) Méthode de l'inactivation des carbapénème modifiée mCIM

Principe

Détection de la présence ou de l'absence de carbapénémases (classes A, B et D), par la mise en évidence de la perte de l'activité de la carbapénème au contact de l'enzyme produite par la souche à tester (CLSI 2020).

Technique

- ✓ Réaliser une suspension dense de la souche à tester (un ôse plein de 1 µl dans 2 ml de bouillon Trypticase-Soja (TSB) ou à défaut de l'eau saline.
- ✓ Agiter en vortex pendant 10 à 15 secondes.
- ✓ Immerger un disque de méropénème 10 µg dans cette dernière suspension.
- ✓ Incuber le tube à 35°C pendant une durée de 4h.
- ✓ Reprendre le même disque de méropénème à l'aide d'un ose stérile en éliminant l'excès de suspension sur la paroi interne du tube.
- ✓ Replacer le disque à la surface d'une gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée à l'aide d'une suspension de la souche indicatrice sensible *E.coli* ATCC 25922 dont la densité a été ajustée à 0.5 Mc Farland.
- ✓ Incuber la boîte à 35°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture

Interprétation des résultats est basée sur le diamètre de la zone d'inhibition obtenu autour du méropénème. (Annexe III)

c) Test à l'EDTA

Principe

Ce test est fait pour la mise en évidence des carbapénémases de classe B (métalloenzymes VIM, NDM et IMP) par la restauration de l'activité de la carbapénème en présence d'EDTA (CLSI 2020).

Technique

- ✓ Sur une gélose MH parfaitement sèche, ensemencer par écouvillonnage la souche à tester (inoculum 0.5 Mc Farland).

- ✓ Déposer sur la gélose les disques imipénème (10 µg) et imipénème + EDTA (à défaut déposer 10 µl d'une solution d'EDTA 0,1 M sur un disque d'imipénème).

Lecture

Un résultat positif se traduit par une augmentation du diamètre du disque imipénème +EDTA d'une différence supérieur ou égale 5mm par rapport à l'imipénème seul.

d) Test à la témocilline

Principe

Détection des carbapénémases du type OXA-48 qui dégradent à haut niveau la témocilline (CLSI 2020).

Technique

- ✓ Sur une gélose MH parfaitement sèche, ensemercer par écouvillonnage la souche à tester (inoculum 0.5 Mc Ferland).
- ✓ Déposer sur la gélose un disque de témocilline (10 µg).
- ✓ Incuber pendant 18-24 heures à 35°C.

Lecture

Un résultat positif se traduit par le diamètre d'inhibition autour de la témocilline Si le diamètre est inférieur à 12 mm c'est à dire la souche est potentiellement productrice d'OXA-48.

I.2.8.Méthode automatisées

I.2.8.1.Le système d'identification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques automatisés BD Phoenix

Principe

Selon la fiche technique du l'automate, le système de microbiologie automatisé BD Phoenix est conçu pour identifier et effectuer un test de sensibilité aux antibiotiques sur des bactéries d'intérêt clinique. Afin d'identifier différents types de bactéries.

L'appareil permet d'effectuer au maximum 100 échantillons à la fois. La galerie est formée d'un côté ID (pour Identification) et d'un côté AST (test de sensibilité) (Djebbar *et al.*, 2019).

Ensemencement des galeries

- ✓ Inoculer le bouillon ID avec des colonies bactériennes issues d'une culture jeune ajustée à un standard de 0.5 Mc Farland à l'aide d'un densitomètre.
- ✓ Verser un volume de 25µl de cette suspension dans le bouillon AST et homogénéiser.
- ✓ Ajouter une goutte d'indicateur de résazurine dans la suspension AST et homogénéiser.

Matériel et méthodes

- ✓ Verser le reste de la suspension ID dans la partie gauche du panneau phoenix et la suspension AST dans la partie droite, refermer l'orifice avec le couvercle puis lancer l'identification sur l'automate (**Djebbar et al., 2019**).

Résultats et discussion

III.1.Résultats

Durant notre période d'étude nous avons collecté 2178 prélèvements biologiques. Notre échantillon était composé des femmes et des hommes appartenant à différentes tranches d'âges. Les prélèvements étudiés provenant des personnes hospitalisés et des externes.

Tableau III : Total de prélèvements recueillis des différents services.

	Urine	Selle	Sang	Liquide de ponction	Cathéter	PDP	crachats	Pus	Total
Positifs (entérobactérie)	61	02	12	10	03	04	17	28	137
Autres bactérie	19	00	77	24	34	25	24	39	242
Négatifs	790	25	217	428	63	69	112	95	1799
Total	870	27	306	462	101	98	153	162	2178

III.1.1. Données microbiologiques

III.1.1.1.Résultats de l'identification des entérobactéries

Après incubation, les isolats bactériens ont montré divers aspects culturels, en fonction de milieu de culture utilisé, des tests d'orientation et des tests biochimique par la galerie classique et la galerie Api 20 E et cela en fonction de leur appartenance (voir tableaux IV-X et les figures 02 et 03 (toutes les photos sont originales).

a) Coloration de gram

Les entérobactéries sont des bacilles à gram négatif.

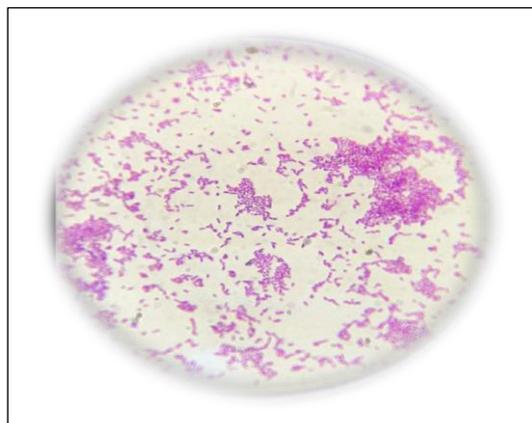


Figure 02 : Résultats de coloration de gram d'entérobactéries G ($\times 100$)

(Photo original, 2023).

b) Tests d'orientations

Test de catalase et d'oxydase

Les résultats du test de catalase et d'oxydase sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau IV : Résultats des tests de catalase et d'oxydase

Test d'orientation	Catalase	Oxydase
Photo original		

c) Test d'identification des entérobactéries par galeries classique

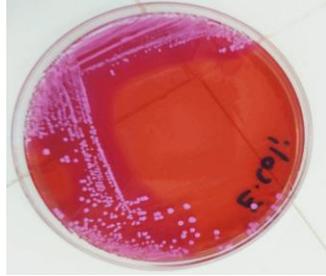
L'identification des entérobactéries par la galerie classique est représentée par la figure 03.



Figure 03 : Résultats de l'identification par galerie classique (Photo original, 2023).

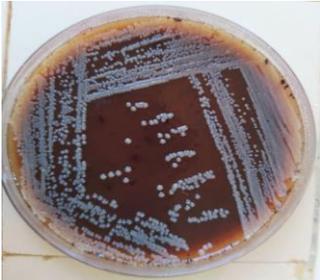
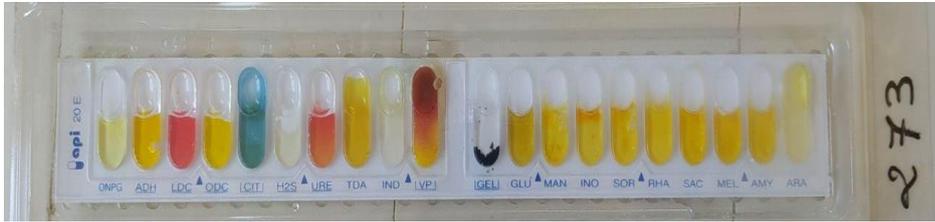
d) Résultats d'identification des entérobactéries

Tableau V : Résultats de l'identification d'*Escherichia coli*

<i>Escherichia coli</i>																																										
<p style="text-align: center;">Gélose nutritive</p>  <p style="text-align: center;">Colonies rondes, lisses à bords régulières, opaques et blanchâtres</p>	<p style="text-align: center;">Gélose Hektoon</p>  <p style="text-align: center;">Colonies de couleur jaune orangé avec des précipites biliaire</p>	<p style="text-align: center;">Gélose Mac Conkey</p>  <p style="text-align: center;">Colonies roses à rose foncé, sèches et en forme de beignet et sont entourées d'une zone rose foncé de sels biliaires précipités</p>																																								
																																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>ONPG</th> <th>ADH</th> <th>LDC</th> <th>ODC</th> <th>CIT</th> <th>H2S</th> <th>URE</th> <th>TDA</th> <th>IND</th> <th>VP</th> <th>GEL</th> <th>GLU</th> <th>MAN</th> <th>INO</th> <th>SOR</th> <th>RHA</th> <th>SAC</th> <th>MEL</th> <th>AMY</th> <th>ARA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>			ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA																							
+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+																							

Résultats et discussion

Tableau VI : Résultats de l'identification de *Klebsiella pneumoniae*

<i>Klebsiella pneumoniae</i>																																										
<p>Gélose au sang cuit</p>  <p>Colonies blanchâtre, aspect extrêmement muqueux.</p>	<p>Gélose Hekton</p>  <p>Colonies de couleur jaune orangé, ronde, lisses, bombées, brillantes, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine.</p>	<p>Gélose Mac Conkey</p>  <p>Colonies d'aspect mucoïdes, grandes et rose foncé à pale.</p>																																								
																																										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>ONPG</th> <th>ADH</th> <th>LDC</th> <th>ODC</th> <th>CIT</th> <th>H2S</th> <th>URE</th> <th>TDA</th> <th>IND</th> <th>VP</th> <th>GEL</th> <th>GLU</th> <th>MAN</th> <th>INO</th> <th>SOR</th> <th>RHA</th> <th>SAC</th> <th>MEL</th> <th>AMY</th> <th>ARA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> </tr> </tbody> </table>	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA																							
+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+																							

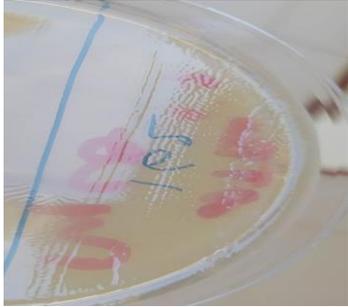
Résultats et discussion

Tableau VII : Résultats de l'identification d'*Enterobacter cloacae*

<i>Enterobacter cloacae</i>																																									
<p>Gélose Hekton</p>  <p>Colonies de couleur jaune orangé</p>	<p>Gélose Mac Conkey</p>  <p>Colonies roses</p>																																								
																																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>ONPG</th> <th>ADH</th> <th>LDC</th> <th>ODC</th> <th>CIT</th> <th>H2S</th> <th>URE</th> <th>TDA</th> <th>IND</th> <th>VP</th> <th>GEL</th> <th>GLU</th> <th>MAN</th> <th>INO</th> <th>SOR</th> <th>RHA</th> <th>SAC</th> <th>MEL</th> <th>AMY</th> <th>ARA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> </tr> </tbody> </table>	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA																						
+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+																						

Résultats et discussion

Tableau VIII : Résultats de l'identification de *Proteus mirabilis*

<i>Proteus mirabilis</i>																																									
<p style="text-align: center;">Gélose nutritive</p>  <p style="text-align: center;">Colonies entourées de plusieurs vagues envahissant la gélose.</p>	<p style="text-align: center;">Gélose Hekton</p>  <p style="text-align: center;">Colonies vertes à centre noir.</p>																																								
																																									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">ONPG</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">ADH</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">LDC</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">ODC</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">CIT</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">H2S</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">URE</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">TDA</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">IND</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">VP</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">GEL</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">GLU</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">MAN</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">INO</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">SOR</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">RHA</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">SAC</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">MEL</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">AMY</th> <th style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">ARA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>		ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA																						
-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-																						

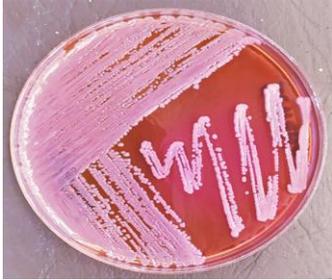
Résultats et discussion

Tableau IX : Résultats de l'identification de *Salmonella enteritidis*

<i>Salmonella enteritidis</i>																																									
<p style="text-align: center;">Gélose nutritive</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Colonies transparentes et grosses.</p>	<p style="text-align: center;">Gélose Hekton</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Colonies de couleur verte avec centre noir.</p>																																								
<div style="text-align: center;">  </div>																																									
<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>ONPG</th> <th>ADH</th> <th>LDC</th> <th>ODC</th> <th>CIT</th> <th>H2S</th> <th>URE</th> <th>TDA</th> <th>IND</th> <th>VP</th> <th>GEL</th> <th>GLU</th> <th>MAN</th> <th>INO</th> <th>SOR</th> <th>RHA</th> <th>SAC</th> <th>MEL</th> <th>AMY</th> <th>ARA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">·</td> <td style="text-align: center;">·</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">·</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">·</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">·</td> <td style="text-align: center;">+</td> </tr> </tbody> </table>		ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	·	·	+	+	+	+	·	·	·	·	·	+	+	+	+	+	·	+	·	+
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA																						
·	·	+	+	+	+	·	·	·	·	·	+	+	+	+	+	·	+	·	+																						

Résultats et discussion

Tableau X : Résultats de l'identification de *Serratia liquefaciens*

<i>Serratia liquefaciens</i>																																									
<p>Gélose Hekton</p>  <p>Colonies de couleur jaune saumon</p>	<p>Gélose Mac Conkey</p>  <p>Colonies bombées</p>																																								
																																									
<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>ONPG</th> <th>ADH</th> <th>LDC</th> <th>ODC</th> <th>CIT</th> <th>H2S</th> <th>URE</th> <th>TDA</th> <th>IND</th> <th>VP</th> <th>GEL</th> <th>GLU</th> <th>MAN</th> <th>INO</th> <th>SOR</th> <th>RHA</th> <th>SAC</th> <th>MEL</th> <th>AMY</th> <th>ARA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">.</td> <td style="text-align: center;">.</td> <td style="text-align: center;">.</td> <td style="text-align: center;">.</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">.</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> <td style="text-align: center;">+</td> </tr> </tbody> </table>		ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	+	+	+	+
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA																						
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	+	+	+	+																						

III.1.2. Données épidémiologiques

III.1.2.1. Répartition des entérobactéries selon la nature des prélèvements

Les résultats démontrent une prédominance des entérobactéries dans les prélèvements urinaires 45% (n=61) suivis par les prélèvements du pus 20% (n=28), ensuite les prélèvements des expectorations avec un pourcentage de 12% (n=17), puis les prélèvements d'hémoculture 9% (n=12) et les liquide de ponction avec un taux de 7% (n=10). Les résultats les moins importants sont constatés avec les prélèvements distaux protégés, les cathéters et les coprocultures.

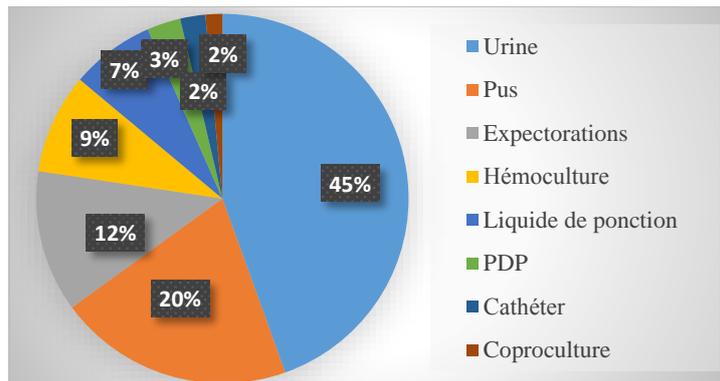


Figure 04 : Répartition des entérobactéries selon la nature des prélèvements.

III.1.2.2. Répartition des entérobactéries selon l'espèce bactérienne

La distribution totale des espèces isolées, montre qu'*Escherichia coli* était l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée avec 37% (n=51) de l'ensemble des espèces étudiées. En deuxième position se trouve *Klebsiella pneumoniae* avec 26% (n=36). En troisième position se trouve *Enterobacter cloacae* avec 10% (n=14), et en quatrième position se trouve *Proteus mirabilis* avec 5% (n=7). Pour le reste des souches, le nombre obtenu durant la période de cette étude n'est pas important.

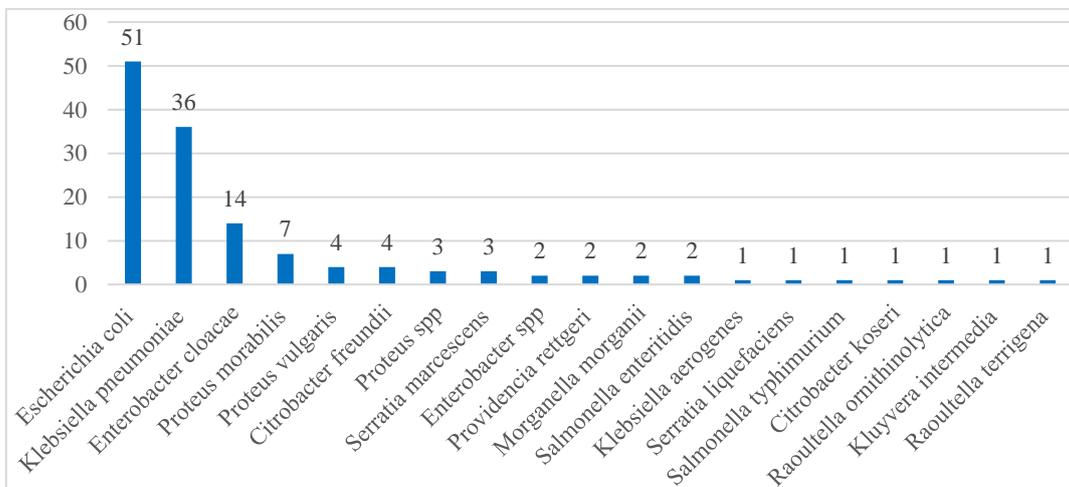


Figure 05 : Répartition des entérobactéries selon l'espèce bactérienne.

III.1.2.3.Répartition des entérobactéries isolées à partir de divers prélèvements biologiques.

Les résultats les moins importants sont constatés avec les prélèvements distaux protégés, les cathéters et les coprocultures (**Tableau XI**)

Tableau XI : Répartition des entérobactéries à partir de divers prélèvements biologiques

Prélèvement	Entérobactéries	Nombre	Taux
Urine	<i>Escherichia coli</i>	38	64%
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	22%
	<i>Proteus mirabilis</i>	02	3%
	<i>Proteus spp</i>	02	3%
	<i>Klebsiella aerogenes</i>	01	2%
	<i>Morganella morganii</i>	01	2%
	<i>Salmonella enteritidis</i>	01	2%
	<i>Serratia liquifasciens</i>	01	2%
Pus	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	07	25%
	<i>Proteus vulgaris</i>	04	14%
	<i>Proteus mirabilis</i>	03	11%
	<i>Escherichia coli</i>	03	11%
	<i>Serratia marcescens</i>	02	7%
	<i>Enterobacter cloacae</i>	02	7%
	<i>Enterobacter spp</i>	02	7%
	<i>Providencia rettgeri</i>	02	7%
	<i>Morganella morganii</i>	01	4%
	<i>Citrobacter freundii</i>	01	4%
	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	01	4%
Expectoration	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	06	35%
	<i>Escherichia coli</i>	04	23%
	<i>Enterobacter cloacae</i>	03	18%
	<i>Citrobacter freundii</i>	02	12%
	<i>Serratia marcescens</i>	01	6%
	<i>Citrobacter koseri</i>	01	6%
Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae</i>	04	34%
	<i>Escherichia coli</i>	04	34%
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	03	25%
	<i>Proteus mirabilis</i>	01	8%
Liquide de ponction	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	04	40%
	<i>Enterobacter cloacae</i>	02	20%
	<i>Proteus mirabilis</i>	01	10%
	<i>Proteus spp</i>	01	10%
	<i>Citrobacter freundii</i>	01	10%

Résultats et discussion

	<i>Kluyvera intermedia</i>	01	10%
PDP	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	50%
	<i>Escherichia coli</i>	01	25%
	<i>Enterobacter cloaceae</i>	01	25%
Cathéter	<i>Escherichia coli</i>	01	33.4%
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	01	33.3%
	<i>Raoultella terrigena</i>	01	33.3%
Coproculture	<i>Salmonella enteritidis</i>	01	50%
	<i>Salmonella typhimirium</i>	01	50%

III.1.3.Profil d'antibiorésistance des entérobactéries

Au cours de notre étude les résultats de l'antibiogramme de différentes espèces identifiées ont été exprimés par la lecture de diamètre d'inhibition et la comparaison aux valeurs critiques des diamètres d'inhibition retrouvées dans la 8^{ème} édition de la standardisation des antibiogrammes à l'échelle nationale.

III.1.3.1.Nombre et taux de résistance d'*Escherichia coli*

Au cours de cette étude un total de 51 souches d'*Escherichia coli* a été isolé. Les résultats de leur résistance aux antibiotiques testés sont présentés dans la figure 06.

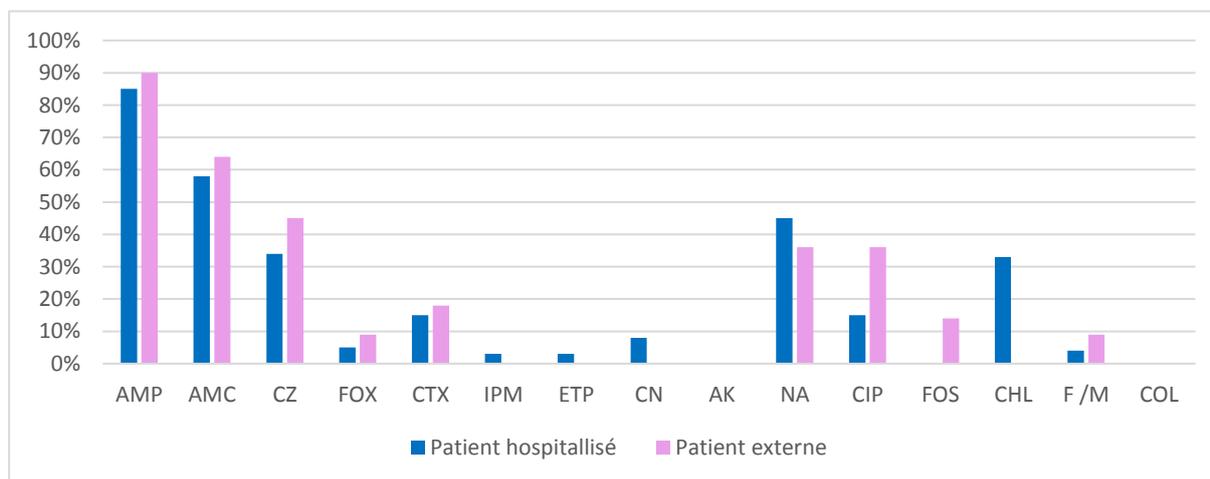


Figure 06 : Profil de résistance d'*Escherichia coli* chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.

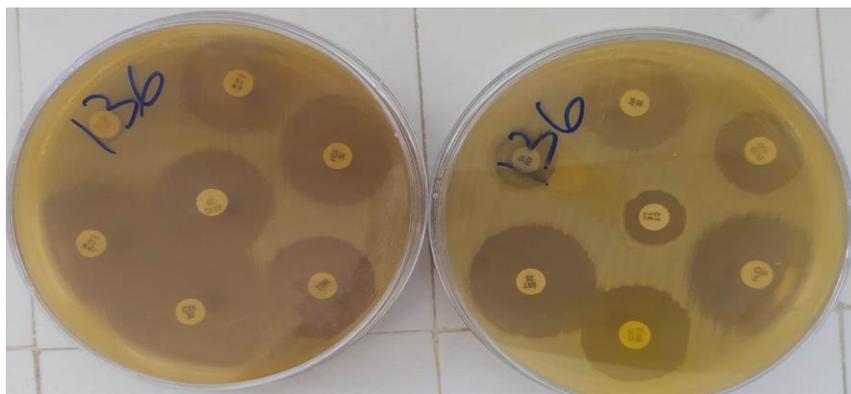


Figure 07 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *Escherichia coli*
(Photo original, 2023).

Le taux de résistance le plus élevé était vis-à-vis aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines AMP (86%), AMC (59%). Par ailleurs un taux de résistance (37%) pour la céfazoline (CZ).

Des taux de résistances moyennes vis-à-vis aux quinolones ; acide nalidixique (43%) et ciprofloxacine (33%). Les molécules les plus actives sur les entérobactéries sont les carbapénèmes avec un taux de résistance de 1,5%, suivi par co-trimoxazole (5%) puis céfotaxime et gentamycine (6%).

D'un point de vue général, les souches isolées des prélèvements des patients ambulatoires étaient plus résistantes aux désigner que celles des malades hospitalisés. Ceci s'observe en particulier pour la famille des bêta-lactamine (AMP, AMC, CZ CTX et FOX) aussi à la ciprofloxacine et à la fosfomycine.

III.1.3.2. Nombre et taux de résistance de *Klebsiella pneumoniae*

D'après les résultats obtenus dans cette étude, 32 patients se sont révélés positifs à une infection causée par *Klebsiella pneumoniae*. Les résultats de la résistance de ces souches vis-à-vis aux antibiotiques testés sont mentionnés dans la figure ci-dessous.

Résultats et discussion

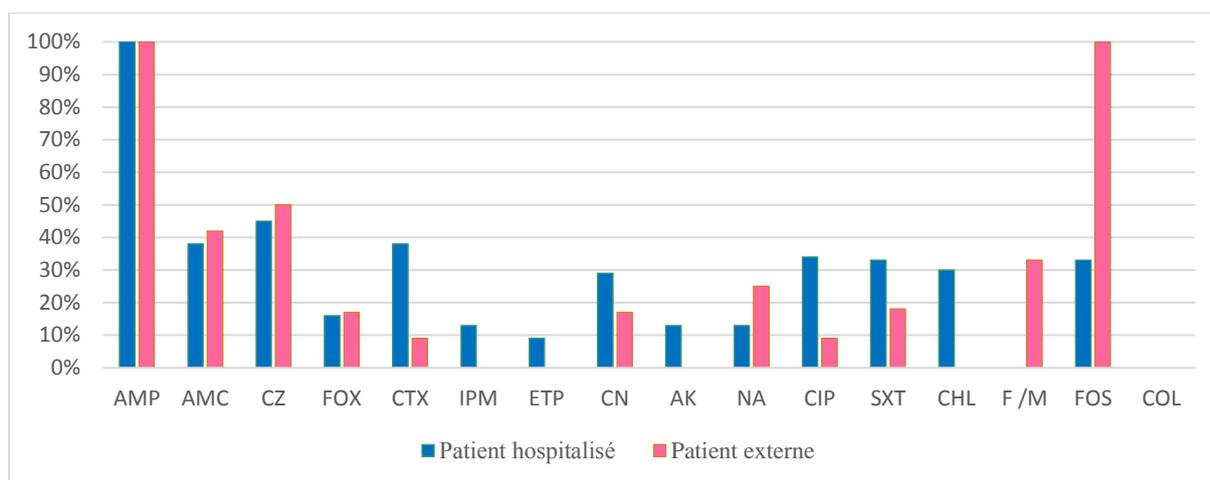


Figure 08 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.

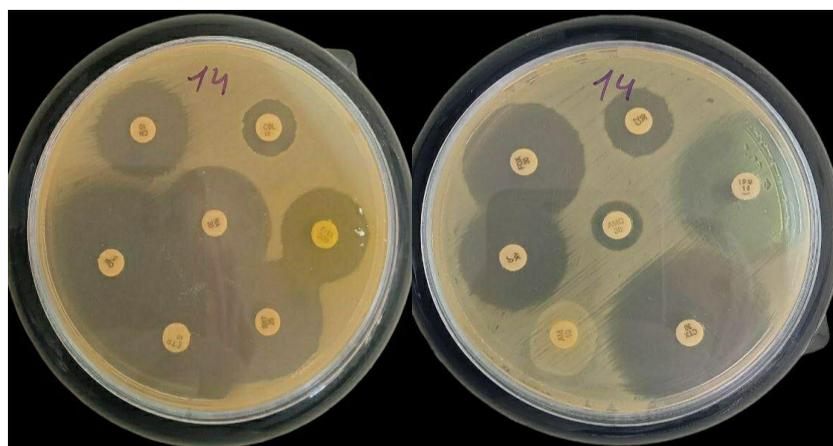


Figure 09 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *Klebsiella pneumoniae* .

(Photo original, 2023)

La figure 08 montre une résistance élevée de *Klebsiella pneumoniae* pour l'ampicilline (100%) (résistance naturelle) et la fosfomycine (63%). Une résistance modérée a été observée pour la céfazoline (47%), l'amoxicilline + acide clavulanique (39%), à la céfotaxime et cotrimoxazole avec un taux de 29%.

Les aminosides sont moins actifs sur les souches de *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de résistance de (17%). Concernant les quinolones, un taux de résistance compris entre (17% et 26%).

D'un point de vue général, les souches isolées des prélèvements des patients non hospitalisés étaient plus résistantes aux désigner que celles des malades hospitalisés. Ceci s'observe en particulier pour la famille des bêta-lactamine en particulier (AMC, CZ et FOX) à l'acide nalidixique, la nitrofurane et la fosfomycine.

III.1.3.3. Nombre et taux de résistance d'*Enterobacter cloacae*

D'après les résultats obtenus dans cette étude 14 souches d'*Enterobacter cloacae* ont été isolées et les résultats de leurs antibio-résistance sont résumés dans La figure ci-dessous.

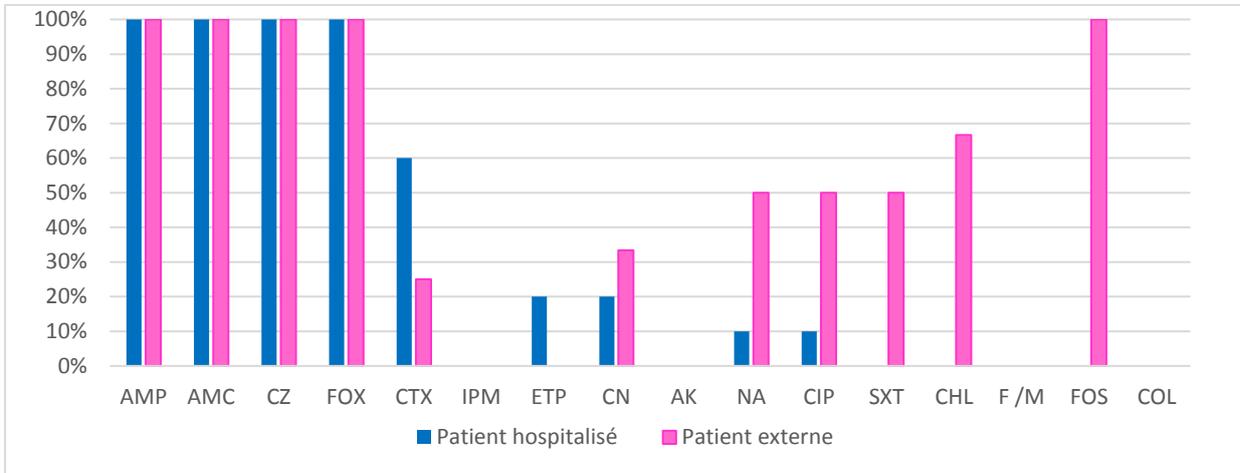


Figure 10 : Profil de résistance d'*Enterobacter cloacae* chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.

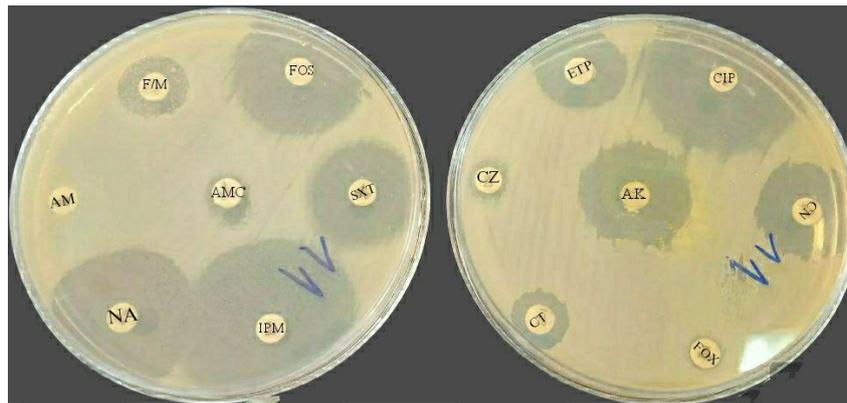


Figure 11 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *Enterobacter cloacae*.
(Photo original, 2023)

La figure 10 montre que les souches d'*Enterobacter cloacae*, présentent une résistance totale (100%) à nombreux bêta lactamines (AMP, AMC, CZ, FOX) (résistance naturelle) et à la FOS, une résistance élevé est observée vis-à-vis à la céfotaxime (57%). Une faible résistance de 14% à 17% observée vis-à-vis du co-trimoxazole, ertapénème et chloramphénicol. De plus, relativement résistantes à gentamycine et aux quinolones (23%).

On a observé que les souches isolées des prélèvements des patients externes étaient plus résistantes que celles des malades hospitalisés. Ceci s'observe en particulier pour la famille des quinolones, à la fosfomycine, chloromphénicol, gentamycine et à la co-trimoxazole, contrairement aux céfotaxime et ertapénème qui sont plus résistant chez les patients hospitalisés.

III.1.3.4. Nombre et taux de résistance de *Proteus mirabilis*

Les résultats des tests d'antibiorésistances concernant les souches *Proteus mirabilis* sont illustrés dans la figure ci-dessous

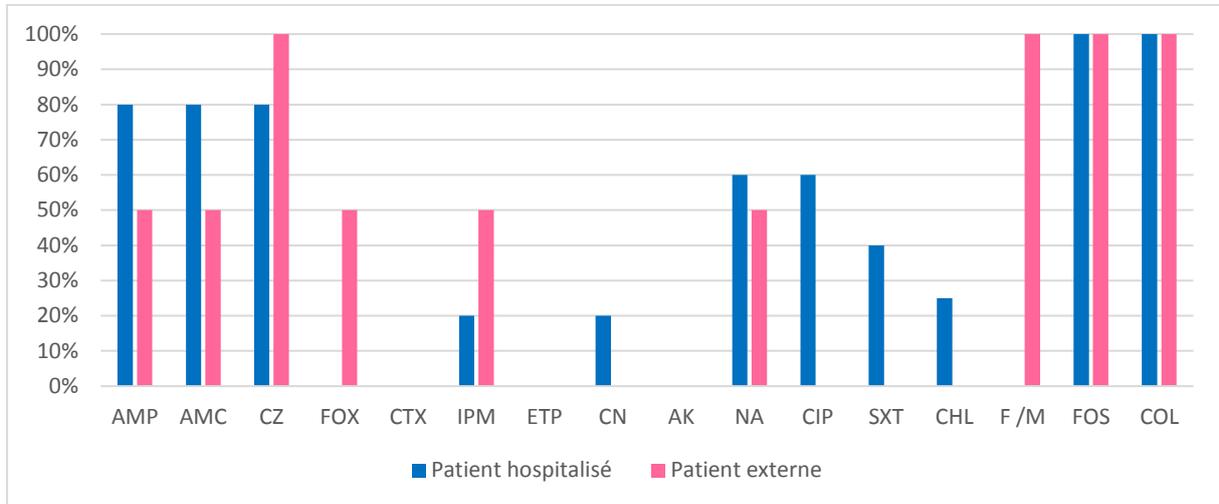


Figure 12 : Profil de résistance de *Proteus mirabilis* chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.

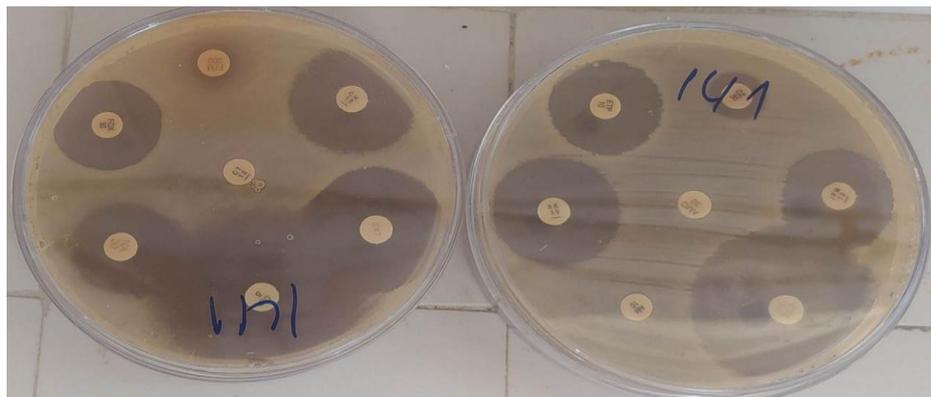


Figure 13 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *Proteus mirabilis*.

(Photo original, 2023)

Selon la figure 12, les souches de *Proteus mirabilis* étudiées présentent des taux de résistances totales à la fosfomycine et la colistine, ainsi une résistance élevée vis-à-vis des bêta-lactamines testées : 86% pour la céfazoline 71% pour l'ampicilline et l'amoxicilline + acide clavulanique. En ce qui concerne le taux de résistance aux quinolones est entre 43% à 57% et de 29% pour l'imipénème et la co-trimocazole.

Le taux de résistance des souches isolées des prélèvements des patients hospitalisés étaient plus élevés que celles des patients externes. Cette résistance touche la famille des bêta lactamine (AMP, AMC, CZ), les aminosides, les quinolones la fosfomycine et chloromphénicol. Contrairement aux céfazoline, imipénème et nitrofurane et co-trimoxazole qui sont plus résistants chez les patients externes.

II.1.3.5. Nombre et taux de résistance des entérobactéries les moins fréquentes

Le profil de résistance des entérobactéries les moins fréquentes aux antibiotiques, comme indiqué dans la figure 23 a montré une résistance importante à la fosfomycine (66.6%) (2/3) suivie par l'acide nalidixique (48%), par contre on note une résistance très faible à la gentamycine (24%) (1/19) suivie par l'imipénème et l'amikacine avec un taux de 7%.

Le taux de résistance à la gentamycine et ciprofloxacine était modéré (20 et 31% respectivement)

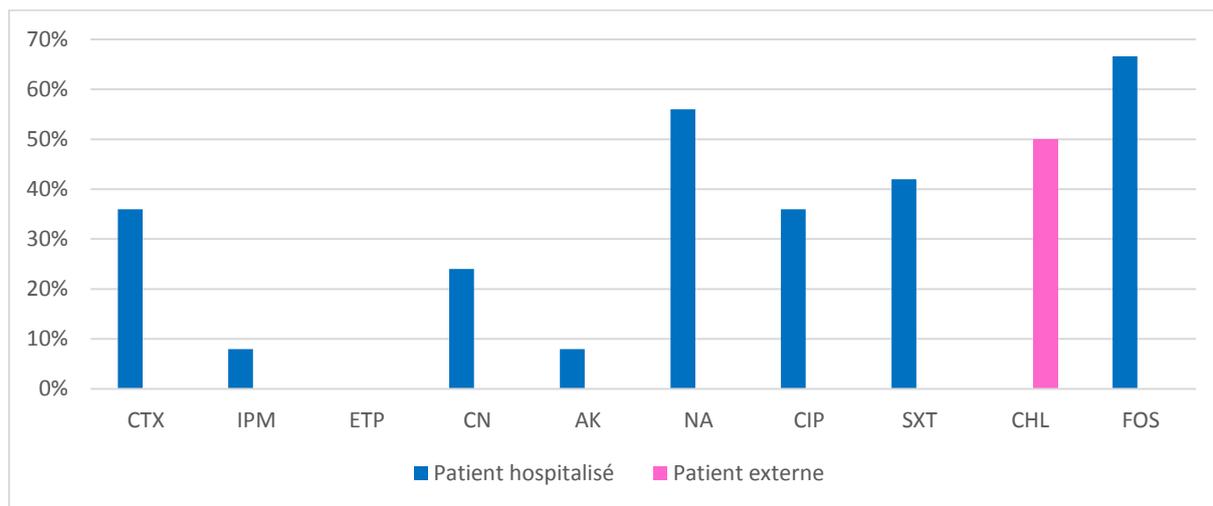


Figure 14 : Profil de résistance des autres entérobactéries chez des patients hospitalisés et des externes aux antibiotiques testés.

III.1.4. Répartition des souches d'entérobactéries BLSE (+)

Sur un total de 137 souches d'entérobactéries isolées 28 souches sont productrices de BLSE (+) avec un pourcentage de 20%.

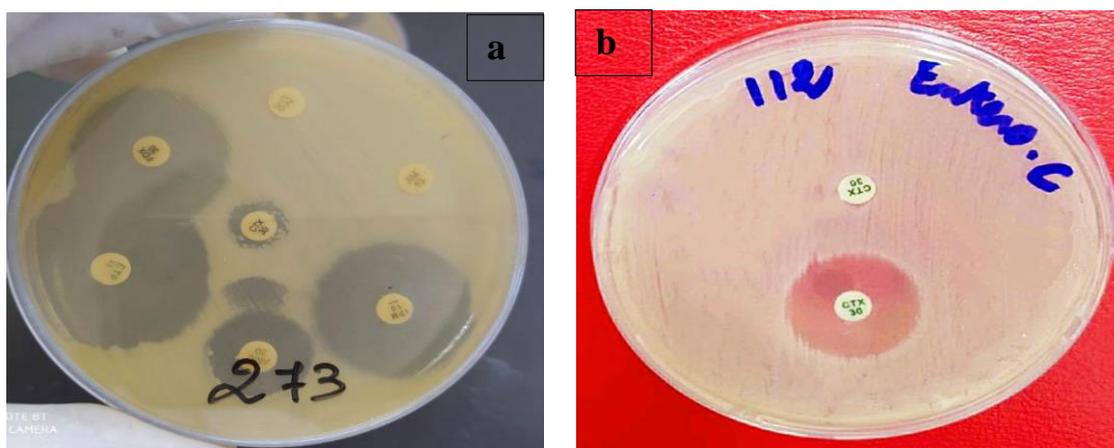


Figure 15: Résultats des tests complémentaires pour la recherche de BLSE chez les entérobactéries : a) test de synergie, b) test de double disque (Photo original, 2023).

III.1.4.1. Répartition des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon le service

Les entérobactéries productrices de carbapénémase sont réparties sur 10 services de CHU Béni Messous et quelques établissements considérés comme externes.

Le nombre le plus élevé des souches d'entérobactéries BLSE positives appartenait aux services de néphrologie et hématologie avec une fréquence de 18% (n=5) suivie respectivement par le service de médecine interne un taux de 14% (n=4).

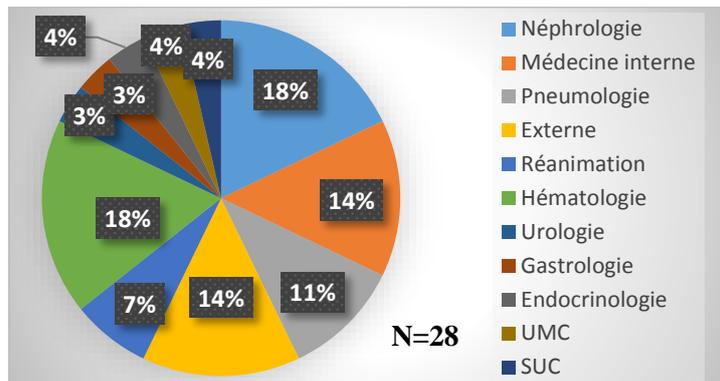


Figure 16 : Répartition des entérobactéries productrices de BLSE positives par services.

III.1.4.2. Répartition des souches d'entérobactéries BLSE (+) selon l'espèce bactérienne

La figure ci-dessous montre la répartition des 28 souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées selon l'espèce. Cette distribution rapporte que *Klebsiella pneumoniae* (n=8) et *Enterobacter cloacae* (n=7) sont les bactéries qui occupent toujours les premières classes avec les plus fortes proportions (29% et 25% respectivement). Suivie par *Escherichia coli* (n=6) avec un pourcentage de 21%.

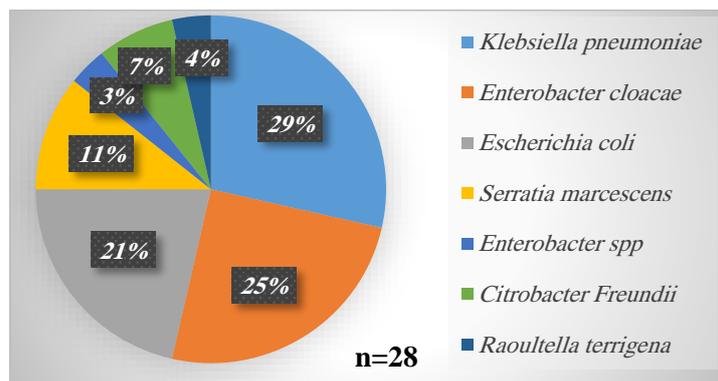


Figure 17 : Répartition des entérobactéries productrices de BLSE par espèce bactérienne.

III.1.4.3. Profil de résistance globale aux antibiotiques des souches d'entérobactéries BLSE (+)

La figure 26 indique une résistance totale (100%) des souches d'entérobactéries Productrices de BLSE aux céphalosporines de 3ème génération (CTX) et à la fosfomycine.

Résultats et discussion

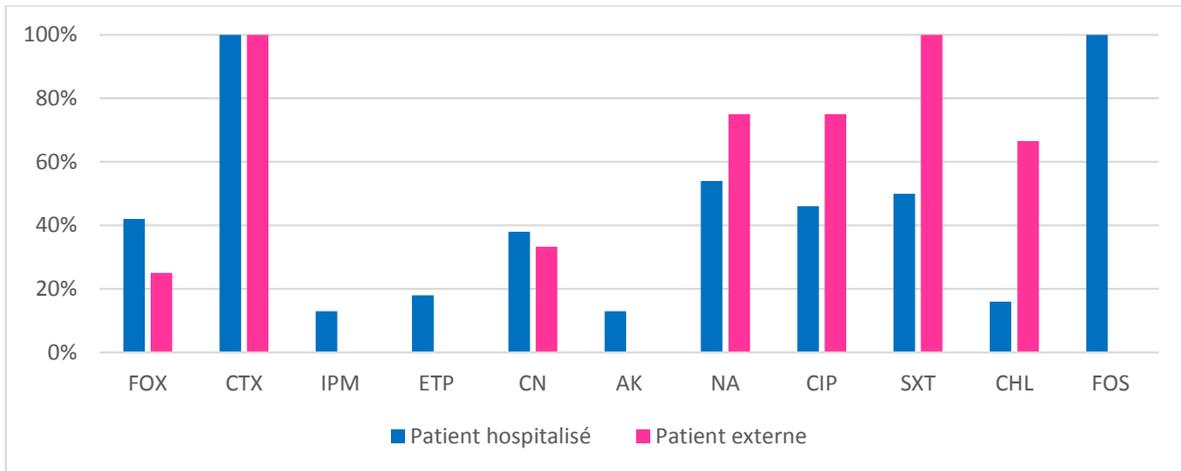


Figure 18: Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries BLSE (+).

La figure 18 montre que les souches d'E-BLSE isolées de malades hospitalisés sont totalement résistantes à le CTX et FOS. Une résistance moyenne est observée vis-à-vis de SXT (50%), NA (54%) et CIP (46%). En revanche, les carbapénèmes et l'amikacine conservent une excellente activité avec un taux de résistance entre 13% à 18%.

Le taux de résistance des E-BLSE isolées de malades consultant en externe est de 100% pour le céfotaxime et la fosfomycine. Une résistance élevée est observée vis-à-vis des quinolones avec de taux de 75% et le chloramphénicol 67%. Par contre, l'AK, IPM et ETP conservent une bonne activité, avec des taux de résistance nul.

III.1.5 .Répartition des souches d'entérobactéries selon la production de carbapénémase

Sur un total de 137 souches d'entérobactéries isolées 07 souches sont productrices de carbapénémase (+) avec un pourcentage de 5%.

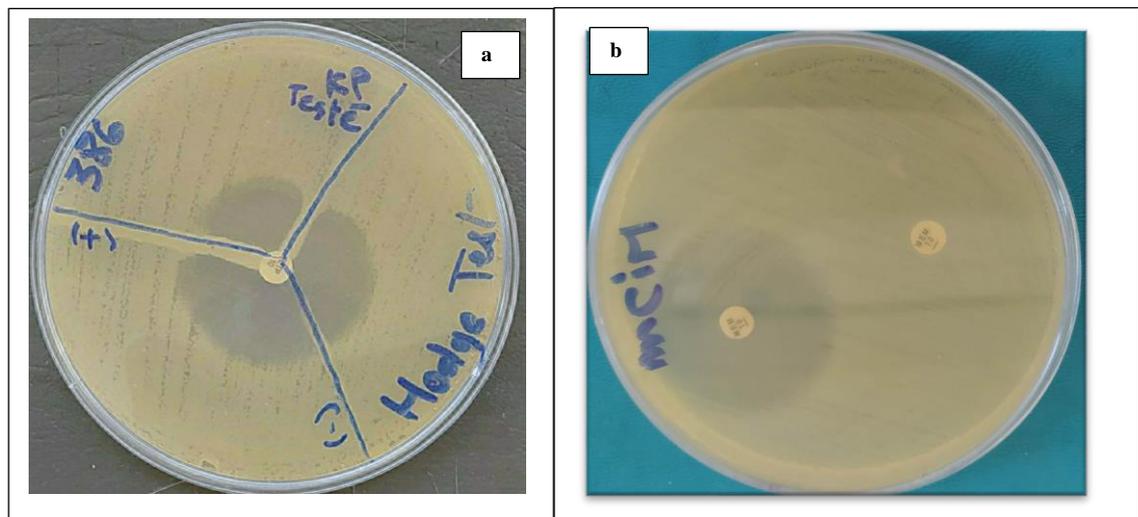


Figure 19 : Résultats des tests complémentaires pour la recherche de la production de carbapénémase : a) test de Hodge modifié b) test de mCIM (Photos originales, 2023).

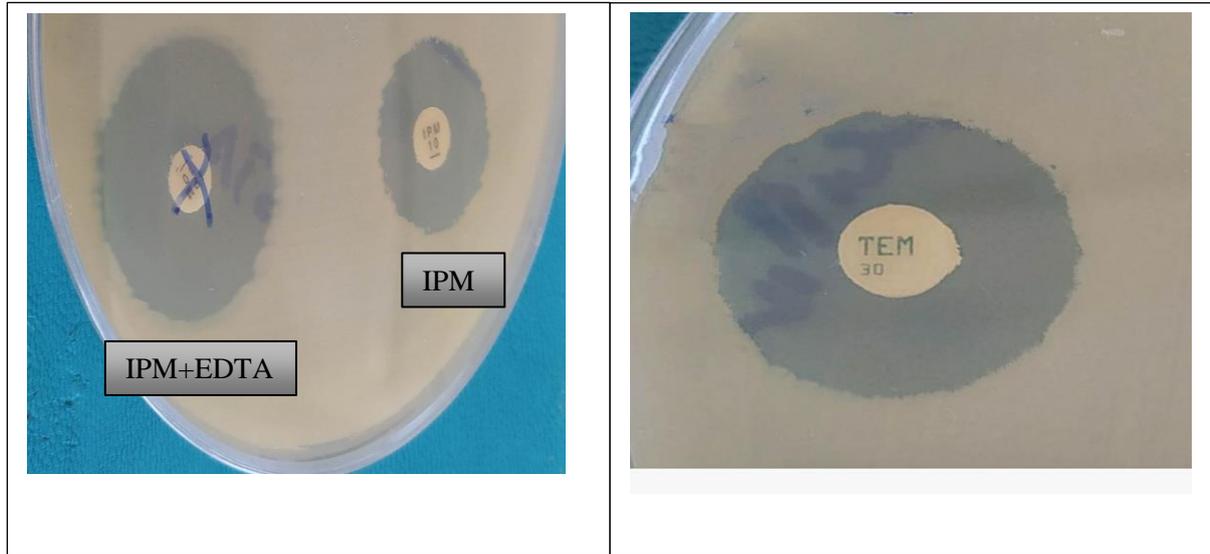


Figure 20 : Résultats des tests complémentaires : a) test à l'EDTA , b) test à la tétracycline (Photos originales,2023).

III.1.5.1. Répartition des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase par service

La figure ci-dessous montre que les patients hospitalisés aux services de réanimation et néphrologie sont les plus exposés aux infections dues par les EPC avec un taux de 29% (n=2) suivie par les service d'hématologie , médecine interne et SUC avec une fréquence de 14% (n=1).

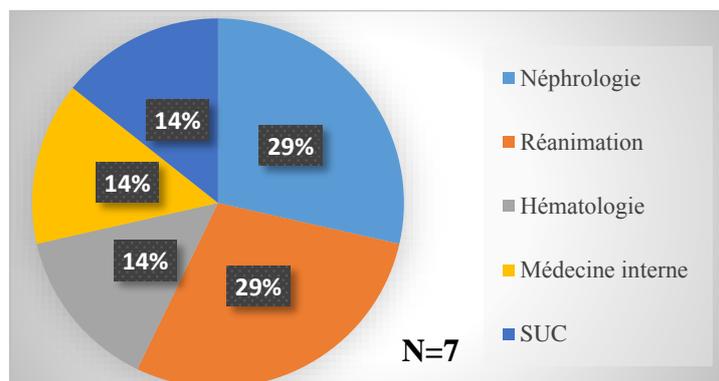


Figure 21 : Répartition des entérobactéries productrices de carbapénèmase par service.

III.1.5.2. Répartition des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase selon l'espèce bactérienne

Les résultats montrent que *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* sont les espèces les plus fréquentes avec un taux de 29% (n=2) suivie par *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Raoultella terrigena* avec un taux de 14% (n=1).

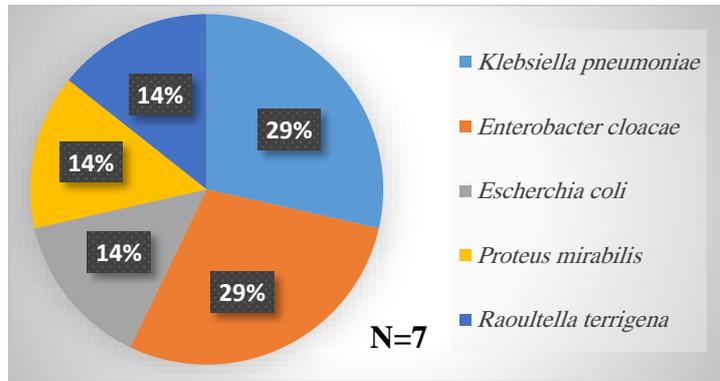


Figure 22 : Répartition des entérobactéries productrices de carbapénèmase par espèce bactérienne.

III.1.5.3. Profil de résistance globale aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase

La figure 23 indique une résistance totale (100%) des souches d'entérobactéries Productrices de carbapénèmase à la fosfomycine. On note aussi une résistance élevée à la famille des bêta-lactamines.

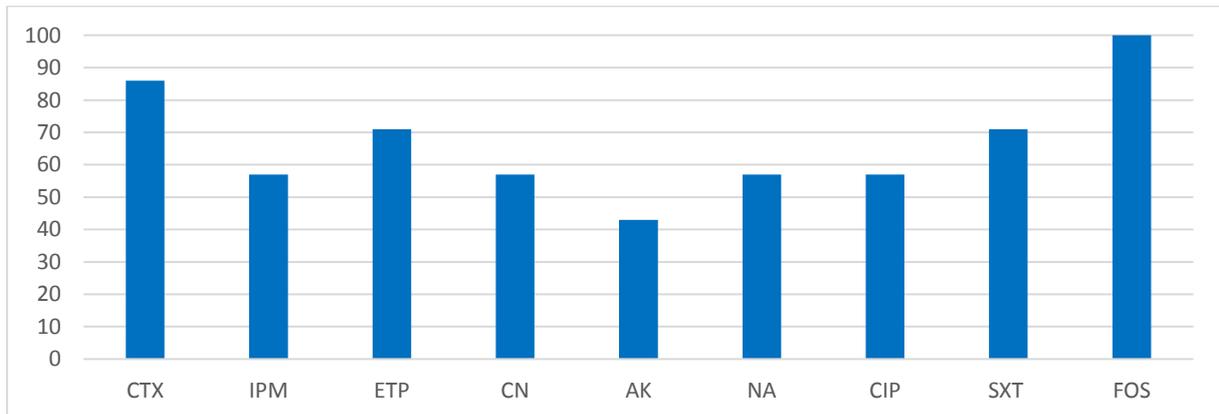


Figure 23 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase.

Résultats et discussion



Figure 24 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *Escherichia coli* productrice de carbapénèmase (**Photo original, 2023**).

Selon la figure 23, l'ensemble des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase étudiées présentent des taux de résistances totales (100%) à la fosfomycine, ainsi une résistance élevée vis-à-vis des bêta-lactamines testées : 86% pour la céfotaxime, 71% pour l'ertapénème et le co-trimoxazole et 57 % pour l'imipénème. Pour les aminosides le taux de résistance est entre 43% à 57% et de 57 % pour les quinolones.

III.2.Discussion

Les entérobactéries jouent un rôle crucial dans les maladies humaines, en raison à la fois de la diversité d'espèces bactériennes qui les constituent et de leur impact sur la santé des populations. Ces bactéries sont responsables d'un large éventail d'infections, notamment les méningites, les infections urinaires, les gastro-entérites sévères et potentiellement mortelles. De plus, elles sont également incriminées dans les infections respiratoires graves ainsi que les infections nosocomiales (**Djebbari et al., 2019**).

Dans la plupart des études, les souches isolées proviennent majoritairement des urines. Dans notre cas, ces isolats représentaient 45 % de l'ensemble, Ces résultats sont conformes à ceux rapportés dans la littérature à Pekin en Chine (**Wang et al., 2023**) indiquant 43.75%. Par contre, ces fréquences sont plus faibles que celles rapportées au Mali (**Touré, 2023**) où la fréquence était 82% et plus élevées que celles rapportées au Niger (**Garba et al., 2020**) indiquant 26.59 %.

Nos résultats montrent également la présence des entérobactéries isolées dans le pus avec une fréquence de 20% comparable aux taux de 18.5% et 13.5% rapportés respectivement par **Akbari et al., (2022)** en Iran et (**Ebongue et al., 2015**) au Cameroun.

Durant notre étude, 137 souches d'entérobactéries ont été isolées. Dans l'ensemble des isolats, *Escherichia coli* reste l'espèce la plus fréquente (37%), suivie par *Klebsiella*

Résultats et discussion

pneumoniae (26%), comme cela été rapporté par plusieurs études (**Touré, 2023 ; Wen et al., 2023 et Amady et al., 2021**).

Sur l'ensemble des urines analysées, les entérobactéries prédominent avec une prévalence de 76%. L'*Escherichia coli* est l'espèce le plus fréquent (64%) suivie par *Klebsiella pneumoniae* (22%) et *Proteus mirabilis* (3%). Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Azar et al., (2023)** en Belgique et (Luka et al., 2022) en Mali montrant une prédominance d'*E.coli* qui s'explique par le fait que cette espèce est la plus dominante de la flore intestinale et qu'elle peut migrer de l'intestin vers le tractus urinaires. Par ailleurs, *E. coli* exprime une multitude de facteurs de virulence qui lui permettent de coloniser l'appareil urinaire et de persister face aux mécanismes de défenses de l'hôte (**Mimouna ,2013**).

Les infections suppurées causées par des entérobactéries à un taux de 42%. *Klebsiella pneumoniae* 25%, *Proteus vulgaris* 14%, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* 11% .Cette répartition est globalement comparable à celle retrouvée dans l'étude de **Teklu et al., (2019)** qui a trouvé une répartition avec près de 20% de *klebsiella pneumoniae*.

Les infections bactériennes respiratoires causées par des entérobactéries à un taux de 41%. *Klebsiella pneumoniae* (35%), *Escherichia coli* (23%) et *Enterobacter cloacae* (18%) étaient les souches les plus isolées dans les expectorations. Ces résultats sont proches des études de **Konate, (2022) ; Villafuerte et al., (2020)**.

Klebsiella pneumoniae fait partie des bactéries opportunistes principalement associées à la septicémie , la pneumonie, l'infection des voies biliaires et la méningite bactérienne .Il peut survivre en milieu hospitalier , coloniser les intestins, les voies respiratoires et la peau humaine. La transmission de cet agent pathogène se fait principalement par les patients admis et le personnel hospitalier (**Balasubramanian et al., 2021**).

Les bactériémies sont causées par 13% des entérobactéries. L'*Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* représentent 34% des isolats, suivi par *Klebsiella pneumoniae* avec 25%. Nos résultats ne corrobore pas avec les résultats de **Roseau et al., (2020)** qui a marqué une prédominance d'*Escherichia coli* (69 %) suivie par *Klebsiella pneumoniae* (11,5 %) et *Enterobacter cloacae* (4,5 %).

Concernant le profil de résistance des entérobactéries aux antibiotiques, nous assistons à une augmentation du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques. Elles résistent souvent à de multiples antibiotiques en raison d'une résistance intrinsèque et/ou d'une résistance acquise.

Le profil de résistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques, a montré une résistance importante à l'AMP (86%), AMC (56%). Ces résistances sont dues majoritairement à

l'utilisation abusive et incontrôlé de ce type d'antibiotique avec ou sans avis d'un médecin. En Chine, Wen retrouvait 85.13% des souches d'*Escherichia coli* résistantes à l'AMP (Wen et al., 2023). Ces résultats sont supérieurs à celui trouvé en Algérie par Aouf et al., (2018) et inférieur à celui trouvé par Toudji et al., (2017) avec des taux de 100% et 87.76% pour l'AMP et l'AMC respectivement.

La résistance aux céphalosporines de 1ère génération est également élevée, elle est de 37% pour la céfazoline. Cette fréquence est inférieure de celle indiquée dans la littérature (Aouf et al., 2018) avec 18%. Concernant les céphalosporines de 3ème génération, le céfotaxime conserve une bonne activité (13%), cette fréquence est plus importante que celle de Aouf et al., (2018) avec 5.66%, et inférieure à celle indiquée par Goro, (2021) ; Wen et al., (2023) indiquant 56.12% et 60.17% respectivement.

Les carbapénèmes et l'amikacine avaient une bonne activité sur les souches d'entérobactéries entre 0% à 3%. Cette tendance a également été retrouvée en Chine (Wen et al., 2023). Par contre, Toudji a retrouvé un taux plus élevé de résistance de 13.43% pour l'amikacine (Toudji et al., 2017).

Pour les quinolones, les résultats de notre étude indiquent que les souches d'*Escherichia coli* résistantes à l'acide nalidixique et la ciprofloxacine avec un taux de 43% et CIP 33% respectivement. Cette fréquence est inférieure à celle rapportée dans la littérature (Toudji et al., 2017) indiquant 89.61 et 85.11% respectivement et (Benkortbi et al., 2020) avec un taux de 60 % pour l'acide nalidixique.

Les souches d'*Escherichia coli* isolées de patients ambulatoires présentent une résistance élevée aux pénicillines avec des taux de 90%, 64% et 45% pour l'AMP, AMC, CZ respectivement. Ces résultats sont presque proches de ceux trouvés par Mouanga ndzime et al., (2021). En revanche, les fluoroquinolones enregistrent une résistance moyenne avec un pourcentage de 36%. Cette fréquence est proche de celle rapportée en Constantine dans la littérature de Benhamani et Khengui, (2019) indiquant 32.82%. L'IPM et l'AK conservent une excellente activité vis-à-vis des souches externes avec des taux de résistance nulle 0%. Par contre (Ferjani et al., 2015) a trouvé un taux de résistance de 27.2% pour l'amikacine.

Le profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques, a montré une résistance totale à l'AMP (résistance naturelle). On note aussi une résistance très élevée vis-à-vis des β -lactamines : l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique avec un taux de 39 %, de 47% aux céphalosporines de première génération, de 29% aux céphalosporines de 3ème génération et une faible résistance à la cefoxitine soit 17%. Nos résultats sont semblables avec

les résultats obtenus en Algérie par **Aouf et al., (2018)**. Contrairement aux (**Toudji et al ., 2017 ; Belbel, 2013**) qui a constaté un taux résistance élevé à cet famille d'antibiotique.

En revanche, une résistance faible à l'imipénème et l'ertapénème de 7 à 9% a été observé. C'est résultats sont supérieur de celle qui rapporté par **Mouanga et al., (2021)** avec un taux de résistance de 2 % à 4 %.

Concernant les aminosides, on observe une faible résistance pour la gentamicine de 25% suivi par 8% pour l'amikacine. Ces résultats restent proche de celui rapporté par **Goro ,(2021)** avec des taux de 37.96 % et 5.56 % respectivement. Ces résultats sont inférieur de celle qui rapporté par **Belbel, (2013)** indiquant 56% pour la gentamycine et 51 % pour l'amikacine.

Pour les fluoroquinolones, un taux de résistance de de 17 à 25% a été détecté pour l'acide nalidixique et la ciprofloxacine. Ces résultats restent proche de celui rapporté par **Mouanga et al ., (2021)** avec des taux de 13 % et 28% respectivement .Ces résultats sont inférieur de celle qui rapporté par **Toudji et al., (2017)** indiquant 95.83% pour l'acide nalidixique et 78.95 % pour la ciprofloxacine.

D'un point de vue général, les souches isolées des prélèvements des patients non hospitalisés étaient plus résistantes aux désigner que celles des malades hospitalisés. Ceci s'observe en particulier pour la famille des bêta-lactamine en particulier (AMC, CZ et FOX) ainsi à l'acide nalidixique, la nitrofurane et la fosfomycine 5.66%,18.87% et 0% respectivement. Nos résultats sont semblables avec les résultats obtenus par **Mohamedi et Berrah, (2020)** à Oum el bouaghi en Algérie.

Enterobacter cloacae est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales. C'est une bactérie pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses (**Iabadene et al., 2009**). Cette espèce est devenue un agent pathogène opportuniste important chez les patients hospitalisés.

Enterobacter cloacae a une résistance intrinsèque à l'ampicilline, l'amoxicilline, aux céphalosporines de première génération et à la céfoxitine en raison de la production de β -lactamase AmpC constitutive. La surproduction d'AmpC est due à la dérégulation d'un gène chromosomique ou à l'acquisition d'un ampC transférable gène à partir de plasmides ou d'autres éléments mobiles (**Davin-Regli et al., 2015**). Ces résultats sont parfaitement en accord avec ceux trouvées par **Toudji et al., (2017)**.

Les résultats de notre étude ont montré que le taux de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération est estimé à 57% ce qui est presque identique au résultat de **Amady et al., (2021)** avec un taux de 44.7% .Ce résultat est inférieur à celui trouvé par **Boudjemaa ,(2015)**

Résultats et discussion

à Tlemcen avec un taux de résistance (69.6%). Ce résultat est supérieur à celui trouvé par **Benabderrahmane et Benamara, (2021)** à Constantine avec un taux de résistance de 30%.

Nos résultats ont montré une faible résistance de 14% à 17% observée vis-à-vis du co-trimoxazole, ertapénème et Chloramphénicol. De plus, relativement résistantes à la gentamicine et aux quinolones (23%). Pour la gentamicine et la ciprofloxacine on a constaté un taux de résistance de 23% et 21% respectivement. Ces résultats sont proches de celle rapporté par **Intra et al., (2023)**. Pour les carbapénèmes, ces résultats sont similaires à ceux trouvées par **Amady et al., (2021)** Tandis qu'ils sont différents à ceux trouvés par **Boudjema et al., (2014)** avec un taux de 6.3% pour l'IPM et **Bouguenoun et al., (2017)** avec un taux 40% pour l'ETP.

Les souches d'*E. cloacae* isolées de patients externes étaient résistantes à deux ou plusieurs catégories d'antibiotiques (β -lactamines, fluoroquinolones et fosfomycine) par rapport à ceux isolés des patients hospitalisés. Cela est confirmé par l'étude d'**Intra et al. (2023)**.

Les souches de *Proteus mirabilis* étudiées présentent des taux de résistances totales à la fosfomycine et la colistine, ainsi une résistance élevée vis-à-vis des bêta-lactamines testées : 86% pour la céfazoline, 71% pour l'ampicilline et l'amoxicilline + acide clavulanique. Ces résultats sont similaires à ceux trouvées par **Adhikari et al., (2018)** Tandis qu'ils sont supérieurs à ceux trouvés en Algérie par **Aouf et al., (2018)** avec des taux de 25.77%, 60.28% et 21.65% pour le CZ, l'AMP.

En ce qui concerne le taux de résistance aux quinolones était 43% pour la CIP et 57% pour le NA. Ces résultats sont proches à l'étude menée en Algérie en 2018 (**Aouf et al., 2018**) avec un taux de résistance de 54.64% pour l'acide nalidixique. Et supérieur à celle trouvée par **Leulmi, (2015)** avec un taux de 25% et 43 pour la CIP et le NA respectivement.

Concernant l'imipénème et la co-trimoxazole, on observe une résistance assez élevée d'environ 29% suivie par 14% pour la gentamicine. Cette résistance est inférieure de celle rapportée par **Toudji et al., (2017)**; **Tabatabaei et al., (2021)**. Ces résultats sont supérieurs à celui trouvé par **FM et al., (2015)** en Egypte avec un taux de résistance de 42.6% pour la gentamicine. Cependant une résistance nulle a été marquée aux céphalosporines de 3^{ème} génération, l'ertapénème et l'amikacine.

Proteus mirabilis est naturellement sensible à toutes les β -lactamines, l'élévation de la résistance de nos souches isolées se traduit par une résistance acquise qui peut être due à une mutagenèse ou à un transfert de gènes. Cette résistance peut être également associée à

Résultats et discussion

l'émergence et l'extension de nouveaux mécanismes de résistance liée à la sécrétion de β -lactamases. En effet, *Proteus mirabilis* est capable de sécréter une grande diversité de β -lactamases plasmidiques et pourrait constituer ainsi un réservoir de plasmide (**Madi, 2022**).

Le taux de résistance des souches isolées des prélèvements des patients hospitalisés étaient plus élevés que celles des malades non hospitalisés. Cette résistance touche la famille des béta lactamine (AMP, AMC) les aminosides, les quinolones la fosfomycine et chloromphénicol. Contrairement aux céfazoline , ertapénème et nitrofurane et co-trimoxazole qui sont plus résistants chez les patients externes. Cette résistance montre la gravité des infections nosocomiales et communautaires et déclare l'état d'alarme dans les hôpitaux. La pression de sélection liée à l'utilisation d'antibiotiques à large spectre et l'existence même dans l'environnement hospitalier d'un support génétique permettant la sélection de cette résistance, ce sont autant de facteurs importants dans l'évolution de la résistance aux antibiotiques (**Tabatabaei et al., 2021**).

Les bactéries productrices de BLSE constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leur multirésistance aux antibiotiques. En effet, les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion de bacilles à gram négatif, mais les entérobactéries représentent les germes les plus incriminés (**Lagha, 2015**).

Les entérobactéries productrices de BLSE sont devenues un grave problème mondial. La dissémination des BLSE compromet l'activité des antibiotiques à large spectre créant des difficultés thérapeutiques majeures avec un impact significatif sur les résultats pour les patients (**Castelle, 2012**).

Selon notre étude, la fréquence globale d'isolement des entérobactéries productrices de BLSE est de 20%. Ce taux reste proche de celui rapporté par **Amady et al., (2021) : Toudji et al., (2017)** avec des taux de 28.3% et 22.44%.

Les EBLSE sont essentiellement nosocomiales (85%), ce qui rejoint les données de la littérature dans différents pays. Ces souches proviennent en grande proportion de patients hospitalisés en néphrologie et hématologie (18%). A partir d'analyse des résultats antérieurs, nous avons remarquées une variété des services ce qui explique que les BLSE se trouvent partout dans le milieu hospitalier. La fréquence des souches EBLSE (+) dans les services diffère d'une étude à une autre et d'un hôpital à un autre, mais on note que presque tous les services hospitaliers sont contaminés par ces germes pathogènes. Cela peut être expliqué par :

- ◆ Une durée d'hospitalisation généralement longue.
- ◆ L'utilisation de dispositifs invasifs (cathéters, sondes vésicales, intubation...)

Résultats et discussion

- ◆ L'utilisation de multiples antibiotiques, notamment les céphalosporines.

Par ailleurs, 14% des EBLSE ont été isolées chez des patients consultant à titre externe. L'émergence autonome de BLSE dans la communauté a été notée dans plusieurs études. De ce fait, l'augmentation des entérobactéries sécrétrices de BLSE est maintenant observée partout dans le monde non seulement dans les infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires (**Ajdakar, 2015**).

Klebsiella pneumoniae est l'entérobactérie sécrétrice de BLSE la plus fréquente, représentant 29% des entérobactéries sécrétrices de BLSE, suivie d'*Enterobacter cloacae* représentant 25% puis *Escherichia coli* avec 21%. Ces taux restent proches de ceux rapportés à Thiès en 2021 avec 40.7% ,29.8% et 25% successivement (**Amady et al., 2021**). Au contraire des trois études (**Goro, 2021 ; Sbiti et al., 2017; Lagha , 2015**) ont révélé une prédominance de l'espèce *Escherichia coli*.

Dans notre étude, la résistance des souches BLSE à la Gentamicine est de 37%, tandis que la résistance est moindre à l'Amikacine (10%). Celle-ci reste l'aminoside le plus efficace, globalement. Nos résultats sont en accord avec les données des autres pays méditerranéens exception faite pour l'amikacine dont la résistance est très basse (6.1%) dans notre étude (**Sbiti et al.,2017**).Tandis qu'une étude menée au Benin au début de 2015, a rapporté des taux de résistances plus importants à la Gentamicine (82%) et à l'amikacine (72%) (**Anago et al., 2015**). Il apparait, dans nos résultats comme dans d'autres études, que l'amikacine est moins touchée que la gentamicine, mais le taux de résistance à cette molécule ne cesse d'augmenter en raison de sa large prescription.

L'association Triméthoprim-Sulfaméthoxazole présente une forte activité sur les entérobactéries productrices de BLSE, avec 57% de résistance, ce taux reste proche des données de la littérature. En effet, un taux de résistance de 53.3% a été observé en 2013(**Baka et al., 2015**). Des taux aux alentours de 92% ont été rapportés en Suisse et en Algérie (**Cherkaoui et al., 2014 ; Djahida et Drissi, 2011**). Le taux de résistance à la ciprofloxacine rapporté dans notre étude est de 50%. Ce taux est proche de ceux rapportés en Iran en 2014 avec un taux de 45% (**Gholipour et al., 2014**). Des autres études menées en Maroc, et en Suisse indiquent des taux respectifs de 82% et 93% (**El bouamri et al., 2017 ;Cherkaoui et al., 2014**). Le taux élevé de co-résistance des E-BLSE aux quinolones dans le monde entier compromet l'utilisation de cette classe d'anti-infectieux très utilisée en pratique quotidienne. Ceci peut être essentiellement expliqué ; par l'utilisation massive de ces antibiotiques et l'émergence récente de 3 mécanismes de résistance plasmidique aux fluoroquinolones qui sont : le gène Quinolone résistance « qnr »,

Résultats et discussion

les gènes codant respectivement pour une N-acétyltransférase, ACC-(6')-Ibcr et les gènes codant pour la pompe d'efflux QepA (**Sbiti et al., 2017**).

Ces souches ont également montré une résistance de l'ordre de 11% et 15 % vis-à-vis de l'imipénème et de l'ertapénème. Les carbapénèmes demeurent ainsi les molécules de choix dans le traitement d'une infection à E-BLSE en association avec l'amikacine. Cependant, il est essentiel d'insister sur l'usage rationnel des carbapénèmes. Le taux de résistance à l'imipénème observé dans notre étude est presque proche de ceux rapportés en Maroc avec un taux de résistance de 10 % (**El boumari et al., 2017**). Cependant, en Suisse, le taux de résistance rapporté en 2014 est alarmant avec 80% d'entérobactéries BLSE résistantes à l'Imipénème (**Cherkaoui et al., 2014**) rendant le traitement des infections causées par les EBLSE difficile et limitant les choix thérapeutiques.

L'émergence de bactéries résistantes aux carbapénèmes met en péril l'utilisation des carbapénèmes. La prévalence de la production de carbapénémases chez les différentes espèces bactériennes varie d'un pays à l'autre.

Selon notre étude, la fréquence globale d'isolement des entérobactéries productrices de carbapénémase est de 5 %. Ce taux reste proche de celui rapporté par **Benmhidi et al., (2020)** et (**Maamar et al., 2019**) avec des taux de 2.20% et 7% respectivement.

Les EPC sont essentiellement nosocomiales (100%), Les patients hospitalisés aux services de réanimation et néphrologie sont les plus exposés aux infections dues par les EPC avec un taux de 29% (n=2) suivie par les services d'hématologie, médecine interne et SUC avec une fréquence de 14% (n=1).

Notre étude montre bien que *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* sont les espèces les plus fréquentes avec un taux de 29% (n=2) suivie par *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Raoultella terrigena* avec un taux de 14% (n=1). Ces résultats sont proches de ceux rapportés au CHU Ibn Tofail de Marrakech en 2019 qui montre bien que *Klebsiella pneumoniae* est le germe le plus isolé avec un taux de 37%, suivi d'*Enterobacter cloacae* (29%) et *E. coli* (13%) puis les autres entérobactéries (**Tidrarine, 2019**). Cependant, une étude faite en Algérie en 2017 a montré que *E. coli* occupe la 1ère position de l'ensemble des EPC avec un taux de 56.25% (**Benmhidi et al., 2020**).

Notre étude a confirmé une résistance de 71% à l'ertapénème et 57% à l'imipénème, Nos données sont proches à ceux obtenues par **Maamar et al., (2019)**, de celle rapportée à Batna avec un taux de 70% de résistance pour l'imipénème (**Benmhidi et al., 2020**) et en Maroc par

Résultats et discussion

Tidrarine avec une résistance totale à l'ertapénème 100% et 54% pour l'imipénème (**Tidrarine, 2019**). Par contre (**Alizadeh et al., 2020**) a trouvé un taux de résistance plus élevé à l'imipénème avec de 96 %. En effet, il est possible qu'une souche produisant la carbapénémase est résistante à l'ertapénème et sensible à autres carbapénèmes.

Le taux de résistance des souches des EPC à la gentamicine est de 57%, tandis que la résistance est moindre à l'amikacine (43%). Notre taux de résistance reste proche de ceux rapportés en Maroc en 2019 avec un taux de 77% pour la gentamicine et 32% pour l'amikacine (**Tidrarine, 2019**).

Le taux de résistance de Cotrimoxazole observé dans notre étude (71%) reste proche de celui rapporté au CHU de Batna en Algérie (**Benmhidi et al., 2020**). Cette multirésistance pourrait résulter soit de la surconsommation d'antibiotiques, soit du fait que les gènes codant pour les carbapénémases sont souvent associés avec des gènes de résistance à d'autres antibiotiques (**Sadikalay, 2018**).

Le niveau élevé de ces co-résistances observé dans notre étude, concorde avec des études antérieures impliquant le transfert de plasmides entre les espèces bactériennes par acquisition de matériel génétique responsable de la résistance aux antibiotiques. Cette situation est la conséquence de la pression de sélection due à la prescription démesurée et l'usage parfois abusif des antibiotiques à large spectre aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire, sans oublier l'impact de l'alimentation peu contrôlée et où de plus en plus d'antibiotiques sont utilisés en agriculture et dans l'élevage.

Conclusion

Conclusion

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

Au terme des quatre mois d'études, nous avons pu isoler un total de 137 souches d'entérobactérie. Elles ont été isolées essentiellement d'urines, de pus, d'expectoration, d'hémocultures et de prélèvements divers. Les principales espèces d'entérobactéries isolées étaient : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* et d'autres bactéries qui étaient moins fréquentes.

D'après l'analyse des résultats de l'antibiogramme des souches d'entérobactéries, le taux de résistance aux antibiotiques devient être plus élevé et atteignant des taux inquiétants pour certains d'entre eux, notamment aux bêta lactamine comme les aminopenicillines et les céphalosporines et aux quinolones tels que l'acide nalidixique. En revanche, les carbapénèmes et l'amikacine conservent une bonne activité.

La prévalence des entérobactéries productrices de BLSE est importante en milieu hospitalier, soit 86% ; avec une prédominance de *Klebsiella pneumoniae* (29%) suivis par *Enterobacter cloacae* (25%) et *Escherichia coli* (21%).

La production de carbapénémase est notée chez 5% des souches d'entérobactéries, les espèces les plus fréquentes sont *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* avec une prévalence de 29%.

En perspective de ce travail, il est temps d'automatiser nos laboratoires et l'idéal serait d'aller puiser directement dans le génome grâce aux nouvelles techniques de biologie moléculaire qui devraient être introduites dans le laboratoire et qui permettraient de mieux comprendre l'épidémiologie des souches d'entérobactéries multirésistantes.

La diffusion des BMR constitue une menace de santé publique par ce qu'elles réduisent le traitement contre les infections sévères. Ce problème nécessite un renforcement de l'application des mesures d'hygiène et de sensibiliser la population à éviter l'automédication et que l'usage des antibiotiques soit guidé par les données de l'antibiogramme afin de limiter l'émergence de souches résistantes compliquant plus la prise en charge de pathologie.

Références bibliographiques

A

- **Adeolu M, Alnajar S, Naushad S, S Gupta R.** (2016) Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales' : proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* ; 66:5575-5599.
- **Adhikari, R. P., Shrestha, S., Rai, J. R., & Amatya, R.** (2018). Antimicrobial resistance patterns in clinical isolates of enterobacteriaceae from a tertiary care hospital, Kathmandu, Nepal. *Nep Med J*, 1, 74-78.
- **Adoui, M., & Lahouel, M.**(2019) . *Caractérisation des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méticilline (SARM) et évaluation de leur sensibilité à la propolis* (Thèse de doctorat .Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- **Ajdakar, S.** (2015). Les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) : Profil épidémiologique actuel et conséquences thérapeutiques. Marrakech : Université Cadi Ayyad de Marrakech.
- **Akbari, M. H., Ahani Azari, A., & Fozouni, L.** (2022). Broad-Spectrum Beta-Lactamases and Drug-Resistance Phenotypes of Enterobacteriaceae Isolated from Clinical Specimens in Gonbad-e Kavus, Golestan Province, Iran. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases*, 10(1), 19-23.
- **Allocati N, Masulli M, Alexeyev M, Di Ilio M,** (2013), Escherichia coli in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health*, 10(12) :6235-54.
- **Alizadeh, N., Ahangarzadeh Rezaee, M., Samadi Kafil, H., Hasani, A., Soroush Barhaghi, M. H., Milani, M., Yeganeh Sefidan, F., Memar, M. Y., Lalehzadeh, A., & Ghotaslou, R.** (2020). Evaluation of Resistance Mechanisms in Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae. *Infection and drug resistance*, 13, 1377–1385.
- **Amady, S. Y., Oumar, D. I. O. P., MBODJI, M., FAYE, M., FAYE, F. A., NDIAYE, F., ... & FAYE, N.** (2021). Profil de résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries uropathogènes isolées dans le laboratoire de biologie médicale du Centre Hospitalier Régional de Thiès. *Revue Africaine de Médecine Interne*, 8(1), 39-47.
- **Anago E, Ayi-Fanou L, Akpovi C.D, Hounkpe W.B, Agassounon-Djikpo Tchiboza M, Bankole H.S** .2015. Antibiotic resistance and genotype of bêta-lactamase producing

Références bibliographique

Escherichia coli in nosocomial infections in Cotonou, Benin. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 14(1): 5–14.

- **Aouf A, Gueddi T, Djeghout B, Ammari H.** (2018). frequency and susceptibility pattern of uropathogenic enterobacteriaceae isolated from patients in algiers, algeria. *the journal of infection in developing countries.*,12(04): 244-249.
- **Azar, N., Khodor, M., Choucair, J., Hamze, M., & Pirenne, H.** (2023). Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries urinaires dans un contexte ambulatoire en Wallonie-Belgique: une analyse rétrospective sur une période de 5 ans (2018-2022). In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 81, No. 1, pp. 52-60).

B

- **Baka, K. H., Bagueri, M., Lakmichi, M., Dahami, Z., Moudouni, M., & Sarf, I.** (2015). État des lieux de l'antibio-résistance des germes uropathogènes sur une décennie. *Progrès en Urologie*, 25(13), 810-811.
- **Balasubramanian, B., Benit, N., Agastian, P., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Elbadawi, Y. B., ... & Aljowaie, R. M.** (2021). Carbapenemases producing *Klebsiella pneumoniae* from the pus of hospitalized patients : In-vitro antibiotic properties of *Streptomyces* against multidrug resistant infectious bacteria. *Journal of Infection and Public Health*, 14(7), 892-897.
- **Belbel, Z.** (2013). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba.
- **Benkortbi, N., Benbrih, Y., & Rahal, M.** (2022). Identification et caractérisation d'*Escherichia coli* isolée des infections urinaires communautaires dans la région de Médéa (Thèse de doctorat).
- **Benmhidi, M., Boukhalfa, S., Benammar, S., Makhloufi, M., Lounis, A., & Khernane, C.** (2020). Les données de la bactériologie en matière des BHRé au CHU de Batna. *Med Sci*, 7(2), 134-6.
- **Boudjemaa, D.** (2015). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers Département de Biologie: Université Abou Bekr Belkaid–Tlemcen.
- **Boudjemaa, H.** (2020). Prévalence et caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques chez *Proteus mirabilis* (thèse de doctorat).

Références bibliographique

- **Bouguenoun, W.** (2017). étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma (thèse de doctorat en biologie moléculaire et cellulaire. université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie). 20-23p
- **BOUHAFS, Kh, MAMERI, R, TEIAR, R,** (2019). Les bactéries hautement résistantes émergentes isolées au CHU Constantine.
- **Boivin, S., Caux, C., Soucy, C., & Allard, A.** (2016). Les entérobactéries productrices de carbapénémases. *Perspective infirmière*, 13(5), 53-56.
- **BOUTAIBA BENKLAOUZ, M.** (2023). Caractérisation des souches d'entérobactéries multirésistantes d'origine aviaire au niveau de l'ouest Algérien (thèse de doctorat, Université Ibn Khaldoun-Tiaret-Ouzou durant l'année 2018).

C

- **Castelle, M.** (2012) Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu et déficits immunitaires primitifs de l'enfant: impact pronostique et thérapeutique en greffe de moelle osseuse.
- **Cherkaoui A, Emonet S, Renzi G, Riat A, Greub G, Schrenzel J.** (2014). ESBL and carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Revue Médicale Suisse* 12; 10(450): 2142–8.
- **Chouh, F., Chater, A., & Siad, R.** (2019). Profil de résistance aux antibiotiques des bacilles Gram négatif isolés à partir des urines au laboratoire de microbiologie au CHU Nedir Mohammed de Tizi-pratique des bactéries pathogènes : 1 95.
- **Coulibaly, Nyowa Karine.**(2022) *Etude de la résistance aux antimicrobiens dans les infections associées aux soins au service de réanimation du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) du Point G.*Thèse de doctorat. USTTB.

D

- **Dahyot, S., Lemee, L., & Pestel-Caron, M.** (2017). Description et place des techniques bactériologiques dans la prise en charge des infections pulmonaires [Description and role of bacteriological techniques in the management of lung infections]. *Revue des maladies respiratoires*, 34(10), 1098–1113.

Références bibliographique

- **Davin-Regli, A., Lavigne, J. P., & Pagès, J. M.** (2019). Enterobacter spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. *Clinical microbiology reviews*, 32(4), e00002-19.
- **Delville, Alexia.** Les résistances bactériennes aux fluoroquinolones. (2021). Thèse de doctorat.
- **Denis, F., Ploy, M.C., Martin C., Bingen, E., Quentin, R.** (2011). Bactériologie médicale technique usuelles. Edition Elsevier Masson.
- **Denis, F., Cattoir, V., Martin, C., Ploy, M. C., & Poyart, C.** (2016). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Health Sciences.
- **Demba, I.** (2016). Abscès du foie chez l'enfant au Sénégal : description d'une série de 26 cas. *Revue Africaine et Malgache de Recherche Scientifique/Sciences de la Santé*, 3(2).
- **Dembélé, M.** (2020). Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées dans les urines au service bactériologie de l'insp de 2016 à 2018.thèse de doctorat.
- **Demoré, Béatrice, Marion Grare, & Raphaël E. Duval.** (2018) "Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation." 755-789.
- **Djahida S, Drissi M** .2011. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Thèse de magister : biochimie appliquée. Tlemcen- Algérie : Université Abou Bekr Belkaid, 126p.
- **Fadel eddine, A., Djebbari, F., & Mezarguia, B. E.** (2019). *Prévalence des infections urinaires dans les services de Pédiatrie et de Maternité de l'hôpital Khaldi Abdel Aziz-Tébessa* (Thèse de doctorat, Université laarbi tebessi tebessa).
- **Djennane. L, Mohammedi. E, Tiout-rahah. B,** (2009). Examen cyto bactériologiques des urines (E.C.B.U). Institut pasteur d'Algérie, Techniques Microbiologiques.
- **Duval, M., & Cossart, P.** (2019). Un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques : le recyclage des ribosomes. *Sciences médicales : M/S*, 35(8-9), 613-615.

E

- **Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Mefo'o, J. P., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adio, D.** (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *The Pan African medical journal*, 20, 227.
-

Références bibliographique

- **El bekkali .A .** (2016) les techniques de coloration en hématologie. Thèse de doctorat en pharmacie université Mohamed Rabat V.
- **EL bouamri. M.** (2017). Etude epidemio-moleculaire d'enterobacteries productrices de β lactamases a spectre elargi au chu de Marrakech. Thèse de doctorat de l'université Mohammed V – Rabat. 20p.
- **Emilie Garder Martin, Oana Dumitrescu, et philippe.** (2019). « La résistance aux antibiotiques | Planet-Vie ». 2019.
<https://planetvie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>. (consulté le 02 juin 2023).

F

- **Farkas, A., Tarco, E., & Butiuc-Keul, A.** (2019). Antibiotic resistance profiling of pathogenic Enterobacteriaceae from Cluj-Napoca, Romania. *Germs*, 9(1), 17–27.
- **Ferjani, S., Saidani, M., Amine, F. S., & Boubaker, I. B. B.** (2015). A comparative study of antimicrobial resistance rates and phylogenetic groups of community-acquired versus hospital-acquired invasive Escherichia coli. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 45(4), 133-138.
- **Fiche technique Api 20 E.** 2010. Système d'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux. Ref 20 100 / 20 160. Biomerieux SA. 13 p.
- **FM, S., SE, G., & HA, A.** (2018). Résistance aux antimicrobiens du Proteus mirabilis clinique isolé de différentes sources. *Journal Zagazig des sciences pharmaceutiques*, 27 (1), 57-63.

G

- **Gadou, V.** (2019). Epidémiologie moléculaire des enterobacteries productrices de β -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan, Côte d'Ivoire (Thèse de doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire): N° ORDRE 2186/2019).
- **Garba , A. A., Doutchi, M., Lawali , M., Diongole, H., Halidou, M., Aboubacar, I., ... & Adehossi, E.** (2020). Etude Bactériologique des Infections Urinaires chez l'Adulte au

Références bibliographique

Laboratoire de Microbiologie de l'Hopital National de Zinder. *Health sciences and disease*, 21(3).

- **Giuffrè, M., Geraci, D. M., Bonura, C., Saporito, L., Graziano, G., Insinga, V., ... & Mammina, C.** (2016). The increasing challenge of multidrug-resistant gram-negative bacilli: results of a 5-year active surveillance program in a neonatal intensive care unit. *Medicine*, 95(10).
- **Goro, A. A.** (2021). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020 (Thèse de doctorat, USTTB).
- **Grosjean j ., Clavé d ., Archambaud m ., Pasquier c.**, (2016) bactériologie et virologie pratique de boeck supérieur 3 ème édition 296 125 .

I

- **Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Alouache, S., Verdet, C., Bakour, R., & Arlet, G.** (2009). Prevalence of plasmid-mediated AmpC β -lactamases among Enterobacteriaceae in Algiers hospitals. *International journal of antimicrobial agents*, 34(4), 340-342.
- **Intra, J., Carcione, D., Sala, R. M., Siracusa, C., Brambilla, P., & Leoni, V.** (2023). Antimicrobial Resistance Patterns of Enterobacter cloacae and Klebsiella aerogenes Strains Isolated from Clinical Specimens: A Twenty-Year Surveillance Study. *Antibiotics*, 12(4), 775.

J

- **Janda, J. M., & Abbott, S. L.** (2021). The changing face of the family Enterobacteriaceae (order: Enterobacterales): new members, taxonomic issues, geographic expansion, and new diseases and disease syndromes. *Clinical microbiology reviews*, 34(2), e00174-20.
- **Guillet, J ., & Roset , G.**(2022).Les antibiotiques en odontologie , bon usage et antibiorésistance .Biomatériaux clinique BMC vol 7 .,n°1.

Références bibliographique

K

- **Kansaye, H.** (2020). Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées de pus, d'hémoculture et de selles au CHU du point G (Thèse de doctorat, USTTB).
- **Kassogué, A.** (2021). Profil clinique et microbiologique des infections associées aux soins en Réanimation au CHU Point G (Doctoral dissertation)
- **Khanna, A., Khanna, M., & Aggarwal, A.** (2013). *Serratia marcescens*-a rare opportunistic nosocomial pathogen and measures to limit its spread in hospitalized patients. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 7(2), 243.
- **Khodare, A., Kale, P., Pindi, G., Joy, L., & Khillan, V.** (2020). Incidence, microbiological profile, and impact of preventive measures on central line-associated bloodstream infection in liver care intensive care unit. *Indian Journal of Critical Care Medicine : Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, 24(1), 17.
- **Koussa W., KerimiaL., Izouine F (2019)** .Germes isolés en hémocultures et leurs résistances aux antibiotiques durant l'année 2018 thèse en pharmacie Tizi Ouzou. Université de Mouloud Mammeri.
- **Konaré, S.** (2018). Sensibilité aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolées en 2016 au Laboratoire de Biologie Médicale et Hygiène Hospitalière du CHU du Point G [thèse]. Bamako : Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako.
- **Konate, I.** (2022). Profil bactériologique et pronostique des pneumonies bactériennes non tuberculeuses chez les patients VIH au Mali.

L

- **Lagha , N. E. B.** (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat (Thèse de doctorat).
- **Leulmi, Z. K.** (2015). Les *Proteus* incriminés dans les infections communautaires et hospitalières: étude moléculaire de la résistance aux antibiotiques. DBI/115.

Références bibliographique

- **Luka, D., Ouologuem, I., Dissa, M., Doumbia, T., Dembélé, D., Bagayoko, M., ... & Coulibaly, S.** (2022). Epidemiology and bacteriological pattern of urinary tract infections at the medical biology laboratory of the Sikasso hospital. *Health sciences and disease*, 23(12).

M

- **Maamar, B., Messadi, A. A., & Thabet, L.** (2019). Profil moléculaire et résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de carbapénèmes chez le brûlé. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 32(3), 203.
- **Maamar, B., Abdelmalek, R., Messadi, A. A., & Thabet, L.** (2019). Étude épidémioclinique des infections à entérobactéries productrices de carbapénèmes chez les brûlés. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 32(1), 10.
- **Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S, Bingen E.** (2016) Diagnostic bactériologique des infections gastro-intestinales. *Bactériologie Médicale* :149–61.
- **Mellouk, F.** (2017). Evaluation de la résistance des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques« Bactéries isolées dans l'est algérien ». Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Badji Mokhtar-Annaba-Algérie
- **Meziani, M., & Benlabed, K.** (2021). Analyse moléculaire et étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées au CHU de Constantine (Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- **Mhaya, A.** (2019). Analyse de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et étude d'une potentielle voie alternative aux traitements antibiotiques (thèse de doctorat, Bordeaux).
- **Mimouna, S.** (2013). E. coli adhérentes et invasives et pathogénèse de la maladie de Crohn: rôle du facteur hypoxique HIF-1 (Doctoral dissertation, Université Nice Sophia Antipolis).
- **Mouanga Ndzime, Y., Onanga, R., Kassa Kassa, R. F., Bignoumba, M., Mbehang Nguema, P. P., Gafou, A., ... & Bisseye, C.** (2021). Epidemiology of community origin Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae uropathogenic strains resistant to antibiotics in Franceville, Gabon. *Infection and drug resistance*, 585-594.

N

Références bibliographique

- **Namikawa, H., Oinuma, KI, Yamada, K., Kaneko, Y., Kakeya, H. et Shuto, T.** (2023). Prédicteurs des infections hypervirulentes à *Klebsiella pneumoniae* : revue systématique et méta-analyse. *Journal of Hospital Infection*, 134 , 153-160.
- **NECIB, M., & BRAI, S.** (2019). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées des viandes de volaille (Thèse de doctorat, Université laarbi tebessi tebessa).
- **Nordmann, P., Dortet, L., & Poirel, L.** (2013). Multirésistance aux antibiotiques : l'émergence des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Revue francophone des laboratoires-février*, 449, 35-37.
- **Noster, J, Philipp T, et Axel H** (2021). «Detection of Multidrug-Resistant Enterobacterales—From ESBLs to Carbapenemases ». *Antibiotics* 10 (9) : 1140.

O

- **Opatowski, Marion.** s. d. « Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé ».

R

- **Rayane, B., & Elhouda, B. N.** Isolement et Identification d'Enterobacter sp. et l'étude de la résistance aux antibiotiques.
- **Rahmani, A., & Meradi, L.** (2023). Caractérisation de la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées de plusieurs biotopes (thèse de doctorat, Université De Larbi Ben M'hidi Oum EL Bouaghi).
- **Roseau, A., Roubaud-Baudron, C., Carret, M., Carraux-Paz, P., Lanoix, J., Putot, A., ... & Forestier, E.** (2020). Antibiothérapie probabiliste des bactériémies à entérobactéries chez le patient âgé: peut-on faire mieux? Étude EntéroBactAge. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 50(6), S32-S33.

S

Références bibliographique

- **Sadikalay, S.** (2018). Influence des rejets humains et animaux sur la diffusion de l'antibiorésistance à l'homme, aux animaux et à l'environnement en Guadeloupe. Thèse de doctorat.
- **Samson, A. B.** (2019). Étude rétrospective des hémocultures réalisées au CHU de Rouen entre janvier et juin 2017 et analyse de différents indicateurs qualité.
- **Shabani, NRM, Ismail, CMKH, Anthony, AA, Leow, CH, Chuah, C., Majeed, ABA, ... & Leow, CY** (2022). Stratégies d'immunopeptidomique et de vaccinologie computationnelle basées sur la spectrométrie de masse pour l'identification de candidats immunogènes universels à Shigella. *Informatique en Biologie et Médecine*, 148, 105900.
- **Sbiti, M., Lahmadi, K., & Louzi, L.** (2017). Epidemiological profile of uropathogenic enterobacteria producing extended spectrum bêta-lactamases. *The Pan African Medical Journal*, 28, 29-29.
- **Soulieux, L.** (2022). Étude rétrospective des résultats d'analyses microbiologiques de selles chez les agents de l'UCPA du CHU de Rouen lors des consultations en service de santé au travail de 2010 à 2020 (Thèse de doctorat).

T

- **Tabatabaei, A., Ahmadi, K., Shabestari, A. N., Khosravi, N., & Badamchi, A.** (2021). Virulence genes and antimicrobial resistance pattern in *Proteus mirabilis* strains isolated from patients attended with urinary infections to Tertiary Hospitals, in Iran. *African Health Sciences*, 21(4), 1677-84.
- **Talha H. Imam** (2021) University of Riverside School of Medicine Présentation des infections des voies urinaires (IVU).
- **Teklu, D. S., Negeri, A. A., Legese, M. H., Bedada, T. L., Woldemariam, H. K., & Tullu, K. D.** (2019). Extended-spectrum bêta-lactamase production and multi-drug resistance among Enterobacteriaceae isolated in Addis Ababa, Ethiopia. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8, 1-12.
- **Tidrarine, S.** (2019). Epidémiologie des entérobactéries multirésistantes productrices de carbapénèmase à l'HIT (Thèse de Doctorat en Médecine. Faculté de Médecine et de pharmacie Marrakech. Published online).
- **Toudji, A. G., Djeri, B., Karou, S. D., Tigossou, S., Ameyapoh, Y., & De Souza, C.** (2017). Prévalence des souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre

Références bibliographique

élargi isolées au Togo et de leur sensibilité aux antibiotiques. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(3), 1165-1177.

- **Touré, S.** (2023). La bactériorésistance aux antibiotiques au cours des infections urinaires dans le service d'urologie au CHU Gabriel Touré. Thèse en médecine.

V

- **Veyssiere, A.** (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. *Sciences du Vivant [q-bio]*.
- **Villafuerte, D., Aliberti, S., Soni, N. J., Faverio, P., Marcos, P. J., Wunderink, R. G., ... & Mihsra, D. R.** (2020). Prevalence and risk factors for Enterobacteriaceae in patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Respirology*, 25(5), 543-551
-

W

- **Wang, G., Zhu, Y., Feng, S., Wei, B., Zhang, Y., Wang, J., ... & Cui, W.** (2023). Extended-spectrum béta-lactamase-producing Enterobacteriaceae related urinary tract infection in adult cancer patients : à multicenter retrospective study, 2015–2019. *BMC Infectious Diseases*, 23(1), 1-11.
- **Wen, H., Xie, S., Liu, Y., Liang, Y., Zhang, P., Wang, X., & Li, J.** (2023). Retrospective Analysis of Sensitivity Characteristics of Enterobacteriaceae: A Study Based on Specimen Types, Sex, and Age Bracket of Patients. *Infection and Drug Resistance*, 1753-176.

Annexes

Annexe I : Matériels non biologiques

Appareils



Figure 1 : Automate pour la coloration de MGG



Figure 2: BD Bactec FX40 (automate d'incubation et de surveillance des hémocultures).



Figure 3 : BD Phoenix (automate pour l'identification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques).

Tableau I : Matériels non biologiques

Outils de laboratoire	Appareillages	Milieux de cultures	Autres
Jarre à bougie.	Ordinateur de	Gélose nutritive	Alcool à 70%.
Micropipette.	laboratoire munis	Gélose au sang frais	Eau oxygénée.
Pied à coulisse.	d'API WEB.	Gélose au sang cuit	Eau physiologique
Pipette Pasteur.	Etuve pour sécher	Gélose Hekton.	EDTA
Tubes à essais	les géloses.	Gélose Mac Conkey	Diques d'antibiotique
stérile.	Autoclave.	Milieu mueller	Galerie api 20E
Portoir	Densitomètre.	Hinton.	Colorants:
Lame et lamelle.	Microscope		Violet de Gentian.
Cellules de malassez	optique.		Lugol.
Tubes secs.	Four Pasteur.		Fuchine.
Pince métallique.	Réfrigérateur du		Bleu de méthylène.
Ecouvillons.Coton/	laboratoire.		Réactifs:
gase.	Etuve		Réactif de
Seringues Stériles.	d'incubation.		VogesProskauer (VP).
Bec Benzen.	Vortex.		Réactif de Kovacs.
	BD phoenix.		Réactif TDA
	BD Bactec.		(tryptophane
	Appareil pour la		désamine)
	coloration de		Réactif ZYM A et
	MGG.		ZYM B.
			RM
			Résaurine

Annexe II : Résultats d'identification (microscopique)

1. La coloration au bleu de méthylène

✚ Principe

C'est une coloration très simple qui permet d'observer la présence de polynucléaires et de lymphocytes et les différencier les uns des autres. Cette coloration nous oriente vers une infection bactérienne s'il y'a prédominance de polynucléaires ou vers une infection viral s'il y'a une prédominance lymphocytaire (Denis et al., 2011).

✚ Technique

- ✓ Réaliser un frottis et le fixer.
- ✓ Recouvre la lame de bleu de méthylène pendant 5 à 10 minutes.
- ✓ Rincer à l'eau distillée puis laisser sécher.
- ✓ Lire à l'objectif x100 à l'aide de l'huile à immersion.

✚ Lecture

Toutes les cellules apparaissent colorées en bleu, ce qui nous mène à distinguer les cellules suivantes:

- ◆ Les polynucléaires : ont un noyau polylobé qui prend la couleur bleu, d'où l'observation de granules bleus après coloration, il s'agit d'une infection bactérienne.
- ◆ Les lymphocytes : sont de taille moindre que les polynucléaires, et se caractérise par leur gros noyau qui prend la coloration bleu, il s'agit d'une infection viral.

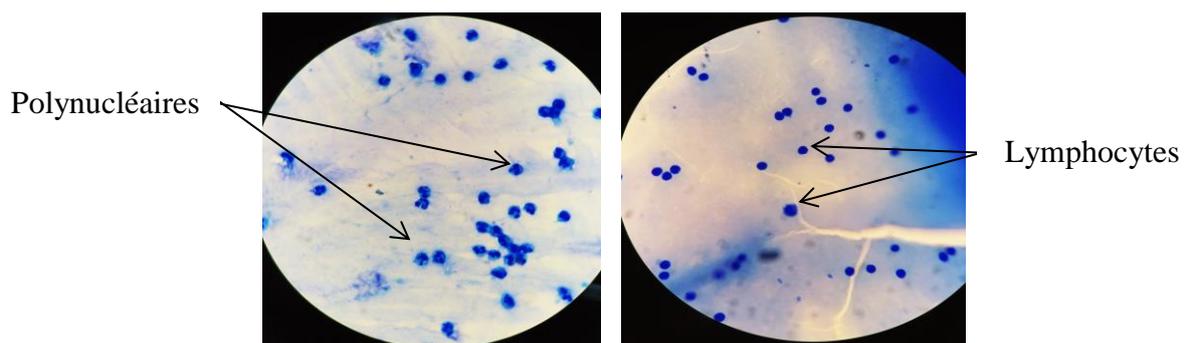


Figure 4 : Résultats d'une coloration de bleu de méthylène G ($\times 100$)

(Photo original, 2023).

2. La coloration au MGG

La coloration de May-Grunewald-Giemsa (MGG) est la coloration de référence de l'hématologie. Elle est devenue une coloration de base de la cytopathologie, applicable à la fois aux liquides pour une meilleure individualisation des éléments cellulaires tels polynucléaires, lymphocytes et les hématies (El bekkali, 2016) .

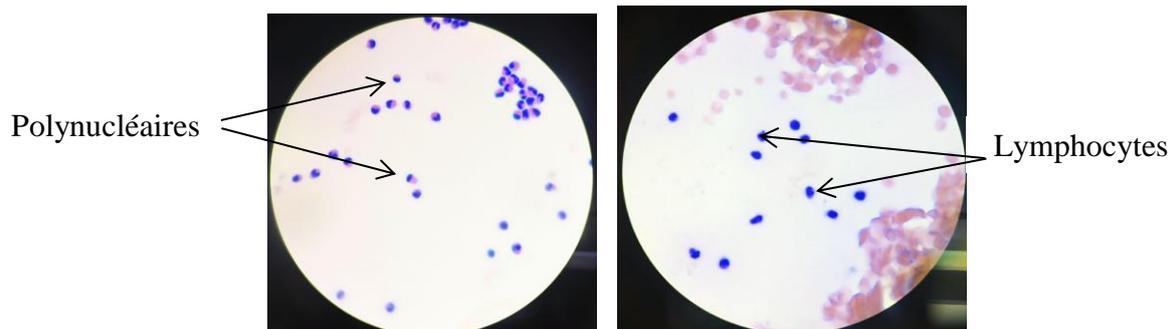


Figure 05 : Coloration au MGG (Photo original, 2023).

3. La Coloration de gram

✚ Principe

La coloration de Gram est une étape essentielle dans l'identification bactérienne. C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle permet de distinguer entre les bactéries à Gram positif (+) et les bactéries à Gram négatif (-) en se basant sur les propriétés de la paroi bactérienne, d'apprécier leurs morphologie et leur mode de regroupement (Coulibaly, 2022).

✚ Technique

Sur le frottis fixé et refroidi :

1. La coloration primaire : Couvrir complètement la lame de violet de gentiane pendant 30 secondes à 1 minute puis rincer à l'eau.
2. La fixation au Lugol : Couvrir la lame de Lugol pendant 30 secondes puis rincer à l'eau.
3. La décoloration à l'alcool : Verser quelques gouttes d'alcool sur le frottis tenu verticalement jusqu'à ce que l'alcool s'écoule non teinté (5 secondes environ). Rincer à l'eau.
4. La coloration secondaire : Recolorer par de la Fuchsine en versant le colorant en bout de lame et en le faisant glisser le long de la lame. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau et laisser sécher.
5. Observation au microscopique avec une goutte d'huile à immersion objectif X100.

Annexe III

Tableau II : Interprétation des résultats d'ECBU

Leucocytes/ml (Leucocyturie)	UFC/ml (Bactériurie)	Interprétation
$< 10^4$	$\leq 10^3$	Absence d'infection urinaire
$< 10^4$	$> 10^5$	Présence d'une infection urinaire
$< 10^4$	Entre 10^3 et 10^5	Début d'une infection ou surtout un prélèvement contaminé
$< 10^4$	$< 10^3$	Leucocyturie sans bactériurie

(Denis et al., 2011)

Tableau III : Interprétation du test mCIM

Diamètre d'inhibition autour du disque de méropénème		Interprétation
≤ 15 mm		Test positif (présence de carbapénèmase)
16-18 mm	Présence de colonie à l'intérieur du diamètre d'inhibition	Test positif (présence de carbapénèmase)
	Absence de colonies à l'intérieur du diamètre d'inhibition	Test indéterminé (la présence de la carbapénèmases ne peut pas être confirmée)
≥ 19 mm Présence ou absence de clones à l'intérieur du diamètre d'inhibition		Test négatif (absence de carbapénèmase)

(CLSI, 2020).

Annexe IV**1. Le contrôle de qualité de l'antibiogramme**

Le contrôle de qualité de l'antibiogramme permet de garantir :

- La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité.
- La performance des réactifs utilisés dans les tests.
- La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture.

Tableau IV : Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 utilisées pour le contrôle de qualité pour antibiogramme

Antibiotiques testés	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Ampicilline	16-22
Amoxicilline +acide clavulanique	18-24
Céfazoline	21-27
Céfoxitine	23-29
Céfotaxime	29-35
Imipénème	26-32
Ertapénème	26-29
Gentamicine	19-26
Amikacine	19-26
Acide nalidixique	22-28
Ciprofloxacine	30-40
chloromphénicol	21-27
Fosfomycine	22-30
Furane	20-25
Co_trimoxazole	23-29
Colistine	11-17

(CLSI, 2020)

2. Liste des antibiotiques

Tableau V : Liste des Antibiotiques utilisés dans le cadre de notre étude

Famille	Groupe	Antibiotique testé	Abréviation	Charge du disque	Diamètre critique (mm)			
					R	I	S	
Béta-lactamines	Pénème	Ampicilline	AMP	10 µg	≤13	14-16	≥17	
	Oxapénème	Amoxicilline +A.clavulanique	AMC	10/20 µg	≤13	14-17	≥18	
	Céphème	Céfazoline	Céfazoline	CZ	30 µg	≤19	20-22	≥23
						≤14	-----	≥15
		Céfoxitime	FOX	30 µg	≤14	15-17	≥18	
		Céfotaxime	CTX	30 µg	≤22	23-25	≥26	
	Carbapénème	Imipénème	Imp	10 µg	≤19	20-22	≥23	
		Ertapénème	Etp	10 µg	≤18	19-21	≥22	
Aminosides	Gentamicine	CN	10 µg	≤12	13-14	≥15		
	Amikacine	AK	30 µg	≤14	15-16	≥17		
Phénicoles	Chloromphénicol	CHL	30 µg	≤12	13-17	≥18		
Polypeptide	colistine	COL	CMI	-----	-----	-----		
Sulfamide et association	Triméthoprim +sulfaméthoxazole	SXT	1.25/23.75 µg	≤10	11-15	≥16		
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30 µg	≤13	14-18	≥19		
	ciprofloxacine	CIP	5 µg	≤21	22-25	≥26		
Nitrofurane	Furane	F/M	300 µg	≤14	15-16	≥17		
Fosfomycine	Fosfomycine	FOS	200 µg	≤12	13-15	≥16		

3. Nombre et pourcentage de résistances des entérobactéries.

Tableau VI: Nombre et pourcentage d'*Escherichia coli* résistantes (R+I) aux antibiotiques.

Antibiotiques	Hospitalisés		Externes		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
AMP	34/40	85%	10/11	90%	44/51	86%
AMC	23/40	58%	7/11	64%	30/51	59%
CZ	13/38	34%	5/11	45%	18/49	37%
FOX	2/40	5%	1/11	9%	3/51	6%
CTX	6/40	15%	2/11	18%	8/51	16%
IPM	1/40	3%	0/11	0%	1/51	2%
ETP	1/34	3%	0/4	0%	1/38	3%
CN	3/40	8%	0/11	0%	3/51	6%
AK	0/40	0%	0/11	0%	0/51	0%
NA	18/40	45%	4/11	36%	22/51	43%
CIP	13/40	15%	4/11	36%	17/51	33%
FOS	0/5	0%	1/7	14%	1/12	8%
CHL	4/12	33%	0/11	0%	4/23	17%
F /M	1/28	4%	1/11	9%	2/39	5%
COL	0/40	0%	0/11	0%	0/51	0%

Tableau VII: Nombre et pourcentage de *Klebsiella pneumoniae* résistantes (R+I) aux antibiotiques

Antibiotiques	Hospitalisés		Externes		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
AMP	24/24	100%	12/12	100%	36/36	100%
AMC	9/24	38%	5/12	42%	14/36	39%
CZ	10/22	45%	6/12	50%	16/34	47%
FOX	4/24	16%	2/12	17%	6/36	17%
CTX	9/24	38%	1/11	9%	10/35	29%
IPM	3/24	13%	0/11	0%	3/35	9%
ETP	2/23	9%	0/6	0%	2/29	7%
CN	7/24	29%	2/12	17%	9/36	25%

Annexe

AK	3/24	13%	0/12	0%	3/36	8%
NA	3/24	13%	3/12	25%	6/36	17%
CIP	8/24	34%	1/11	9%	9/35	26%
SXT	8/24	33%	2/11	18%	10/35	29%
CHL	5/17	30%	0/4	0%	5/21	24%
F /M	0/10	0%	3/9	33%	3/19	16%
FOS	1/3	33%	4/4	100%	5/8	63%
COL	0/24	0%	0/11	0%	0/36	0%

Tableau VIII : Nombre et pourcentage de *Proteus mirabilis* résistants (R+I) aux antibiotiques.

Antibiotiques	Hospitalisés		Externes		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
AMP	4/5	80%	1/2	50%	5/7	71%
AMC	4/5	80%	1/2	50%	5/7	71%
CZ	4/5	80%	2/2	100%	6/7	86%
FOX	0/5	0%	1/2	50%	1/7	14%
CTX	0/5	0%	0/2	0%	0/7	0%
IPM	1/5	20%	1/2	50%	2/7	29%
ETP	0/5	0%	0/1	0%	0/6	0%
CN	1/5	20%	0/2	0%	1/7	14%
AK	0/5	0%	0/2	0%	0/7	0%
NA	3/5	60%	1/2	50%	4/7	57%
CIP	3/5	60%	0/2	0%	3/7	43%
SXT	2/5	40%	0/2	0%	2/7	29%
CHL	1/4	25%	0/1	0%	1/5	20%
F /M	0/0	0%	1/1	100%	1/1	10%
FOS	1/1	100%	1/1	100%	2/2	100%
COL	2/2	100%	2/2	100%	4/4	100%

Annexe

Tableau LX : Nombre et pourcentage d'*Enterobacter cloacae* résistants (R+I) aux antibiotiques.

Antibiotiques	Hospitalisés		Externes		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
AMP	10/10	100%	4/4	100%	14/14	100%
AMC	8/10	80%	4/4	100%	12/14	86%
CZ	10/10	100%	4/4	100%	14/14	100%
FOX	9/10	90%	3/4	75%	12/14	86%
CTX	6/10	60%	2/4	25%	8/14	57%
IPM	0/10	0%	0/4	0%	0/14	0%
ETP	2/10	20%	0/3	0%	2/13	15%
CN	2/10	20%	1/3	33.4%	3/13	23%
AK	0/10	0%	0/4	0%	0/14	0%
NA	1/10	10%	2/4	50%	3/14	21%
CIP	1/10	10%	2/4	50%	3/14	21%
SXT	0/10	0%	2/4	50%	2/14	14%
CHL	0/9	0%	2/3	66.67%	2/12	17%
F /M	0/2	0%	0/0	0%	0/2	0%
FOS	0/0	0%	1/1	100%	1/1	100%
COL	0/10	0%	0/4	0%	0/14	0%

Tableau X : Nombre et pourcentage d'autres entérobactéries les moins fréquentes résistants (R+I) aux antibiotiques.

Antibiotiques	Hospitalisés		Externes		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
CTX	9/25	36%	0/4	0%	9/29	31%
IPM	2/24	8%	0/4	0%	2/28	7%
ETP	0/20	0%	0/3	0%	0/23	0%
CN	6/25	24%	0/4	0%	6/29	20%
AK	2/24	8%	0/4	0%	2/28	7%
NA	14/25	56%	0/4	0%	14/29	48%
CIP	9/25	36%	0/4	0%	9/29	31%
SXT	10/24	42%	0/4	0%	10/28	36%
CHL	0/17	0%	1/2	50%	1/19	5%

