

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB -BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
PROJET DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER EN BIOLOGIE

Option : *Microbiologie/Bactériologie*

**Étude de la résistance aux antibiotiques des souches
d'entérobactéries isolées à partir de divers
prélèvements pathologiques au niveau de l'hôpital de
Koléa**

Présenté par :
BALAHOUANE NABILA

Devant le jury composé de :

| Noms et prénoms | Grade | Lieu d'exercice | Qualité |
|------------------------|--------------|------------------------|----------------|
| Mme HERKAT S. | MAA | USDB | Présidente |
| Mr HAMAI M.S. | MCA | USDB | Promoteur |
| Mme BENBEIBACHE H. | MAA | USDB | Examinatrice |
| Mme DEBIB A. | MAA | USDB | Examinatrice |
| Mme LALAOUI N.F. | Assistante | EPH de Koléa | Co-promotrice |

Promotion 2012/2013

Remerciements

Louanges à Allah le miséricordieux, le très miséricordieux, qui m'a aidé tout au long de ma vie et qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Je tiens à remercier, Monsieur le Promoteur, HAMAIDI M .S, maitre de conférences A à l'Université Saad Dahlab de BLIDA, pour avoir accepté d'encadrer mon travail, pour sa rigueur scientifique, pour son assistance, pour son aide et son soutien.

Mes remerciements s'adressent également à Mme HERKAT S. qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury. Ainsi que Mme BENBAIBACHE H. et Mme DEBIB A. qui m'ont fait l'honneur de participer à ce jury et d'examiner ce travail, j'espère qu'il sera à la hauteur des attentes.

Je remercie ma co-promotrice Mme LALAOUI N. d'avoir accepté de corriger mon travail.

J'adresse mes plus sincères remerciements pour l'équipe du laboratoire central « unité de microbiologie » de l'hôpital de Kolea pour leur sympathie et leur coopération.

Je n'oublie pas à exprimer mes sincères remerciements à tous les professeurs qui m'ont enseigné durant les années d'études

Ces remerciements ne seraient pas complets sans remercier mes parents, mes proches, amis, qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire. Aussi que toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie cet humble travail

- A mes parents qui m'ont soutenu durant toute ma vie.

- A mes sœurs, Selma, Amira et Hadjer,

*Que ce travail les incite à mieux faire et qu'il soit un faible
témoignage de l'affection de leur grande sœur.*

- A mes oncles, mes tantes et mes cousins et cousines

- A toutes mes copines surtout Mehdia et Karima

pour leur aide et encouragement.

*Tous mes camarades de promotion : pour les moments
inoubliables passés ensemble*

Résumé

Le but de cette étude est d'identifier les souches d'entérobactéries et d'évaluer leur niveau de résistance aux antibiotiques. De février à juin 2013, un total de 148 souches d'entérobactéries a été isolé de différents prélèvements (urine, pus et sang) des patients hospitalisés dans les différents services de l'hôpital de koléa aussi que des malades externes.

L'identification a été réalisée par les méthodes bactériologiques conventionnelles. L'étude de la sensibilité *in vitro* aux antibiotiques de ces bactéries a été faite par la méthode de diffusion de disques en milieu solide.

La prévalence des entérobactéries était de 148 souches soit un taux 69,48% du total des isolats (213 souches), avec *Escherichia coli* en tête de liste (60,14%) suivie de *Klebsiella pneumoniae* (12,84%) et de *Proteus mirabilis* (8,10 %).

Pour *E. coli* et *P. mirabilis*, les résistances les plus élevés ont été notées pour l'amoxicilline (76,40% et 50%), la céfazoline (51,69% et 41,67%) et le cotrimoxazole (37,08% et 42,86%).

Concernant les souches de *K.pneumoniae*, la résistance au céfotaxime et à l'association amoxicilline-acide clavulanique étaient respectivement de 31, 58% et 57,89%.

La résistance aux céphalosporines de troisième génération par production de bêta-lactamase à spectre étendu est rencontrée chez 10,81% des entérobactéries. Les quinolones et les aminosides ont conservé une bonne activité.

Mots clés : *Enterobacteriaceae* ; Antibiotiques ; Résistance aux antibiotiques

Abstract

The purpose of this study is to identify *Enterobacteriaceae* and to evaluate their resistance rates to antibiotic agents. During February to June 2013, a total of 148 strains of *Enterobacteriaceae* were isolated from different samples (urine, pus and blood), from patients in the different departments of the hospital of Koléa as well as outpatients.

The identification was carried out by conventional bacteriological methods. Antibiotic susceptibility tests according to disc diffusion method have been realized. A global prevalence of 69.48% was found.

The predominant species were *Escherichia coli* (60.14%), *Klebsiella pneumoniae* (12.84%) and *Proteus mirabilis* (8.10%)

For *E. coli* and *P. mirabilis*, resistance rates were respectively 76, 40% and 50% to amoxicillin, 51, 69% and 41, 67% to céfazolin, and 37, 08% and 42, 86% to cotrimoxazole. Strains of *Klebsiella pneumoniae* were resistant to cefotaxim and the combination amoxicillin-clavulanic- acid in respectively 57, 89% and 31, 58% of cases.

Resistance to third-generation cephalosporins by producing extended spectrum beta-lactamase was present in 10.81% of *Enterobacteriaceae*. Quinolones and aminoglycosides have maintained a good activity.

Key words: *Enterobacteriaceae*; Antibiotics; Resistance to antibiotics.

الملخص

الغرض من هذا العمل هو التعرف على الأنتروبكتيريا و تحديد نسبة مقاومتها للمضادات الحيوية
لقد تم خلال الفترة الممتدة من فيفري إلى جوان 2013 عزل من المرضى الماكثين في شتى اقسام المستشفى و خارجه 148
أنتروبكتيريا من مختلف العينات البيولوجية دم، بول و قيح
تم التعرف عليها بواسطة الوسائل البكتريولوجية ومن ثم أجري إختبار الحساسية، بلغت نسبة الأنتروبكتيريا
60.14%

كانت الإشيريشية كولي الاكثر انتشارا بنسبة 60.4% تليها كلبسيلا بنومونيا بنسبة % 12.84 و بروتئوس ميرابليس
بنسبة % 10.8
بالنسبة للإشيريشيا كولي و البروتئوس ميرابليس اعلى نسب المقاومة سجلت ضد الاموكسيلين بنسب (76.40% و 50%)،
السيغازولين بنسب % 37.80 و % 42.86
اما فيما يخص الكلبسيلا بنومونيا كانت المقاومة للسيفوتاكسيم ومزيج حمض الكلافولانيك والاموكسلين على التوالي
(و % 57.89 و 31.58 %)

بلغ معدل الأنتروبكتيريا المنتجة للبتالاكتاماز (% 10، 81)، من جهة أخرى بينت النتائج أن الكينولون و الأمينوغليكوزيد
حافظا على نشاط جيد

الكلمات المفتاحية: الأنتروبكتيريا، المضادات حيوية، مقاومة الانتروبكتيرية للمضادات الحيوية

Liste des abréviations

AAC : N-acétyltransférase.

AARN: Réseau National de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (Algerian Antimicrobial Resistance Network.).

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AMC : Amoxicilline / Acide clavulanique.

AML : Amoxicilline.

ANT : O-nucléotidyltransférase.

APH : O-phosphotransférase .

ARN : Acide ribonucléique.

ATB : Antibiotique.

BLSE : β -lactamases à spectre étendu (ou élargi)

C1G : Céphalosporines de première génération.

C2G : Céphalosporines de deuxième génération.

C3G : Céphalosporines de troisième génération.

C4G : Céphalosporines de quatrième génération.

CIP : Ciprofloxacine.

CLSI : Clinical Laboratory Standards Institute.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CTX: Céfotaxime.

CZ : Céfazoline

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines.

FF : Fosfomycine.

FOX : Céfoxitine.

GN : Gélose nutritive.

GN: Gentamicine

GSF/ GSC : Gélose sang frais/ cuit.

IPM: Imipénème.

MH : Mueller Hinton.

NA : Acide nalidixique

PLP : Protéine de liaison aux pénicillines.

SHV: Sulphydrique Variable.

SXT : Sulfaméthoxazole-triméthoprim.

Liste des figures

| | |
|--|-----------|
| Figure 1 : Diversité des antibiotiques de type bêta-lactames..... | 10 |
| Figure 2 : protocole expérimentale de l'analyse des échantillons. | 22 |
| Figure 3 : Répartition des prélèvements selon leurs cultures..... | 33 |
| Figure 4 : Répartition des résultats positifs selon les germes isolés..... | 34 |
| Figure 5 : Répartition des souches par services..... | 35 |
| Figure 6 : Pourcentage des patients infectés chez les deux sexes..... | 35 |
| Figure 7 : Répartition des souches d'entérobactéries par espèces..... | 37 |
| Figure 8 : Répartition des profils phénotypiques aux antibiotiques des souches d' <i>E.coli</i> . | 38 |
| Figure 9 : Pourcentage de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques..... | 39 |
| Figure 10 : Pourcentage de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> aux antibiotiques..... | 40 |
| Figure 11 : Pourcentage de résistance de <i>Morganella morganii</i> aux antibiotiques..... | 41 |
| Figure 12 : Pourcentage de résistance des souches d' <i>Enterobacter spp</i> aux antibiotiques. | 42 |
| Figure 13 : Pourcentage de résistance des souches de <i>Citrobacter spp</i> aux antibiotiques... | 43 |
| Figure 14 : Réaction RM (originale)..... | Annexe I |
| Figure 15 : Test de l'uréase (originale)..... | Annexe I |
| Figure 16 : Test d'ONPG. (Originale)..... | Annexe I |
| Figure 17 Test citrate..... | Annexe I |
| Figure 18 : Milieu TSI+..... | Annexe I |
| Figure 19 : Réaction VP (originale)..... | Annexe I |
| Figure 20 : Recherche des décarboxylases (originale)..... | Annexe I |
| Figure 21 : Galerie classique d'identification des entérobactéries..... | Annexe I |
| Figure 22 : Galerie Api 20 E..... | Annexe I |
| Figure 23 : Production d'indole (originale)..... | Annexe I |
| Figure 24 : Test de l'oxydase. (Originale)..... | Annexe I |
| Figure 25 : Etuve de séchage..... | Annexe I |
| Figure 26 : Culture pure d' <i>E.coli</i> | Annexe I |
| Figure 27 : Antibiogramme d'une souche d' <i>E.coli</i> | Annexe I |
| Figure 28 : Microscope optique..... | Annexe I |
| Figure 29 : Test de synergie (originale)..... | Annexe I |
| Figure 30 : <i>E. coli</i> productrice de BLSE (test du double disque positif). (Originale)..... | Annexe I |
| Figure 31 : Différents milieux de culture..... | Annexe II |
| Figure 32 : Différents réactifs..... | Annexe II |

Liste des tableaux

| | |
|--|------------|
| Tableau I : les caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment isolés..... | 04 |
| Tableau II : Classification des entérobactéries selon leur mécanisme de résistance naturelle au bêta-lactamine..... | 15 |
| Tableau III : Classification des β –lactamases..... | 17 |
| Tableau IV : Liste des antibiotiques utilisés..... | 30 |
| Tableau V : Origine selon la culture des prélèvements..... | 33 |
| Tableau VI : Répartition des souches d'entérobactéries par produit pathologique..... | 36 |
| Tableau VII : Répartition des 16 souches d'entérobactéries productrices de BLSE..... | 44 |
| Tableau VIII : Matériels non biologique..... | Annexe I |
| Tableau VIII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries..... | Annexe III |
| Tableau X : Tableau de lecture de la galerie Api 20E..... | Annexe III |
| Tableau XI : répartition des souches selon les services..... | Annexe III |

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------|
| Introduction | 01 |
| CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| I. RAPPEL SUR LES ENTEROBACTERIES | 02 |
| A. Définition | 02 |
| B. Classification..... | 02 |
| C. Habitat et pouvoir pathogène..... | 03 |
| D. Caractères bactériologiques..... | 03 |
| D1. Caractères culturels..... | 03 |
| D2. caractères biochimiques..... | 03 |
| D3. caractères antigéniques..... | 04 |
| G. caractéristiques des principaux genres et espèces..... | 05 |
| II. LES ANTIBIOTIQUES | 08 |
| 1. Définition..... | 08 |
| 2. ...Classification des antibiotiques..... | 08 |
| 3. Les familles d'antibiotiques..... | 08 |
| 3.1. La famille des bêta-lactamines..... | 08 |
| 3.1.1. Définition..... | 08 |
| 3.1.2. Classification des bêta-lactamines..... | 08 |
| 3.1.3. Pénétration des bêta-lactamines dans les bactéries..... | 10 |
| 3.1.4. Mode d'action des bêta-lactamines..... | 10 |
| 3.2. La fosfomycine..... | 11 |
| 3.3. Les aminosides..... | 11 |
| 3.3.1. Définition..... | 11 |
| 3.3.2. Mode d'action des aminosides..... | 11 |
| 3.4. Sulfamides et thriméthoprim..... | 11 |
| 3.5. les quinolones..... | 11 |
| 3.5.1. définition..... | 11 |
| 3.5.2. classification..... | 11 |
| 3.5.3. mode d'action | 12 |
| III. LA RESISTANCE BACTERIENNE | 13 |
| III.1. Définitions..... | 13 |
| III.2. support génétique de la résistance..... | 14 |

| | |
|---|----|
| A. La résistance par mutation chromosomique..... | 14 |
| B. La résistance extra chromosomique..... | 14 |
| III.3. Les différents types de résistances | 14 |
| a. La résistance naturelle..... | 14 |
| b. La résistance acquise..... | 15 |
| III.4. Mécanismes biochimiques de la résistance..... | 16 |
| A. Imperméabilité..... | 16 |
| B. Excrétion par des systèmes d'efflux..... | 16 |
| C. Inactivation de l'antibiotique..... | 16 |
| D. Résistance par modification de l'affinité de la cible..... | 18 |

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

| | |
|---|----|
| I. Matériels..... | 19 |
| A. Matériels biologiques..... | 19 |
| B. Matériels non biologiques..... | 19 |
| II. Méthodes :..... | 19 |
| II.1. Méthodes d'isolement à partir des produits pathologiques..... | 19 |
| A. Prélèvement d'urine..... | 19 |
| B. Hémoculture..... | 20 |
| C. Prélèvement de pus..... | 20 |
| II.2. Techniques..... | 22 |
| 1. L'examen macroscopique..... | 22 |
| 2. L'examen microscopique..... | 22 |
| 3. Mise en culture..... | 22 |
| 4. Identification biochimique des entérobactéries..... | 24 |
| A. Test de l'oxydase..... | 24 |
| B. Galerie classique de l'identification des entérobactéries..... | 24 |
| 1. métabolisme glucidique..... | 24 |
| 2. Etude du type respiratoire..... | 25 |
| 3. Etude du métabolisme protéique..... | 26 |
| C. Galerie Api 20 E..... | 28 |
| 5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques | 29 |
| L'antibiogramme..... | 29 |
| A. Technique..... | 29 |
| B. Tests complémentaires..... | 31 |

| | |
|---|----|
| 1. Test de synergie | 31 |
| 2. Test du double disque..... | 31 |
| CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....33 | |
| 1. Culture des prélèvements..... | 33 |
| 2. Distribution des souches isolées | 34 |
| 3. Répartition des souches d'entérobactéries par services..... | 35 |
| 4. Répartition des souches d'entérobactéries par sexe..... | 35 |
| 5. Répartition des souches d'entérobactéries par produit pathologique..... | 36 |
| 6. Répartition des souches d'entérobactéries par espèces..... | 37 |
| 7. Sensibilités et résistance de principales souches étudiées aux antibiotiques testés..... | 37 |
| 7.1. <i>Escherichia coli</i> | 38 |
| 7.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 39 |
| 7.3. <i>Proteus mirabilis</i> | 40 |
| 7.4. <i>Morganella morganii</i> | 41 |
| 7.5. <i>Enterobacter spp</i> | 42 |
| 7.6. <i>Citrobacter spp</i> | 43 |
| 7.7. Autres souches..... | 44 |
| 8. Entérobactéries sécrétrices de BLSE..... | 44 |
| Conclusion | 47 |
| Références bibliographiques. | |
| Annexes. | |

Introduction

Les entérobactéries occupent une place importante en pathologie infectieuse. Elles sont souvent incriminées dans les infections urinaires, les suppurations et les septicémies.

Les antibiotiques font partie des molécules les plus prescrites notamment en Afrique (**Guessennd et al., 2008**), leur utilisation irraisonnée a conduit à une émergence très inquiétante des bactéries de plus en plus résistantes. (**Lavigne, 2007**)

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème majeur de santé publique, la situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, ou certains bacilles à Gram négatif, parmi les entérobactéries, sont souvent responsables d'infections dues à des souches multirésistantes. La pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont deux facteurs principaux conditionnant cette évolution (**Lobel et Soussy, 2007**)

Les conséquences de ce phénomène deviennent tangibles en termes d'échecs cliniques et de difficulté de prise en charge thérapeutique des infections communautaires et/ ou des infections nosocomiales (**Astagneau et Ancelle, 2011**)

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 (urines, pus, sang) dans Le but de de donner une vue générale sur les phénomènes émergents en termes de résistance des entérobactéries aux antibiotiques, afin d'actualiser des mesures prophylactiques et thérapeutiques pour la gestion du risque lié aux entérobactéries multirésistantes dans l'établissement et d'appréhender l'importance du risque engendré par ce problème dans le secteur communautaire.

La méthodologie de l'étude suivie est :

- Isolement et identification des souches d'Entérobactéries à partir des prélèvements effectués.
- Evaluation de leur prévalence.
- Tester leur résistance vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotiques.

I- RAPPEL SUR LES ENTEROBACTERIES :

A. Définition :

Le nom d'entérobactéries avait été donné à cette famille car plusieurs membres qui la composent sont des hôtes du tube digestif (**Le Minor et Veron, 1990**).

Les entérobactéries constituent un groupe de genres bactériens rassemblés en raison de leurs caractères bactériologiques communs :

- ❖ Bacilles à Gram négatif.
- ❖ Immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche.
- ❖ Se développant en aéro-anaérobiose et sur gélose ordinaire.
- ❖ Acidifiant le glucose par voie fermentative avec souvent production de gaz.
- ❖ Ne possède pas d'oxydase.
- ❖ Possède une catalase (sauf *shigella dysentriae serotype 1*).
- ❖ Réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches d'*Erwinia* et de *Yersinia*)
(**Avril et al, 1992**).

B. Classification :

La famille des *Enterobacteriaceae* a été proposée par OTTO RAHN en 1937, l'analyse des séquences des ARNr 16S permet de placer la famille des *Enterobacteriaceae* selon la deuxième édition du "**Bergey's Manual of Systematic Bacteriology's (2005)**

Règne : des procaryotes

Domaine : des eubactéries

Phylum : des proteobacteria

Classe : des gammaproteobacteria

Ordre : des Enterobacterales

Famille : des *Enterobacteriaceae*

Une centaine d'espèces des *Enterobacteriaceae* sont individualisées, mais 23 d'entre elles représentent 99% des souches isolées en clinique (**Avril et al., 1992**).

Les espèces les plus communément isolées en bactériologie médicale appartiennent aux genres : *Escherichia*, *Enterobacter*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Hafnia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia* (**Denis et al., 2007**).

C. Habitat et pouvoir pathogène :

Parmi les nombreuses espèces des entérobactéries certaines sont commensales du tube digestif de l'homme et des animaux, elles sont retrouvées également chez les végétaux et dans l'environnement (**Grosjean et al., 2009**).

Certaines sont constamment pathogènes (*Salmonella et Shigella*), d'autres espèces tel que (*E. coli, Klebsiella pneumoniae, serratia marcecens...*) se comportent comme des bactéries pathogènes opportunistes responsables d'infections chez des malades fragilisés (**Avril et al., 1992**).

Les entérobactéries sont responsables d'infections diverses. Les principales infections sont les infections entériques, ces dernières sont dues aux entérobactéries entéropathogènes : *Salmonella, Shigella, E. coli, Yersinia Enterocolitica*.

Les infections extra digestives sont très diverses et peuvent être dues à tous les autres genres y compris les entéropathogènes : infections urinaires, respiratoires, méningites (**Amhis, 2009**).

D. Caractères bactériologiques :

D1. Caractères culturels :

-L'ensemble des entérobactéries poussent aisément sur les milieux ordinaires car c'est des germes non exigeants. La température optimale de croissance est comprise entre 35 à 37 °C, mais la culture est possible entre 20° et 40°C en aérobiose et en anaérobiose. Le temps de division varie de 20 à 40 minutes si bien qu'après 24 heures d'incubation on obtient une culture abondante (**Schaechter, 1999**). Les colonies sont bombées, lisses, rondes, bords réguliers selon les espèces, de tailles variant de 1.5 à 3 mm de diamètre (**Grosjean et al., 2009**). Les entérobactéries repiquées en milieu liquide occasionnent un trouble homogène du bouillon (**Le Minor et Veron, 1990**).

D2. Caractères biochimiques :

Les propriétés métaboliques des *Enterobacteriaceae* sont très utiles à l'identification des genres et espèces (**Sherwood et al., 2010**).

-L'identification est réalisée en galerie miniaturisées ou avec des automates. Mais il faut s'assurer d'abord que la culture est pure et qu'il s'agit bien d'un bacille à Gram négatif oxydase négatif (**Grosjean et al., 2009**).

Le tableau I suivant résume quelques propriétés biochimiques des genres fréquemment isolés.

Tableau I : les caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment isolés :

| Tests biochimiques | <i>Escherichia coli</i> | Salmonella | Klebsiella | Citrobacter | Proteus | Providencia | serratia | yersinia | Enterobacter | Shigella, |
|--------------------|-------------------------|------------|------------|-------------|----------|-------------|----------|----------|--------------|-----------|
| Glucose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Lactose | + | - | + | d | - | d | d | - | + | - |
| ONPG | + | d | + | + | - | - | + | + | + | d |
| Citrate | - | d | + | + | d | + | + | - | + | - |
| GAZ | + | + | + | + | + | d | d | - | + | - |
| Indole | + | - | d | d | d | + | - | d | - | d |
| Uréase | - | - | + | + | + | d | - | + | - | - |
| H ₂ S | - | + | - | d | d | - | - | - | - | - |
| VP | - | - | + | - | - | - | + | - | + | - |
| RM | + | + | - | + | + | + | - | + | - | - |
| ADH | D | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| LDC | + | + | + | - | - | d | d | - | d | - |
| ODC | + | + | - | d | d | d | d | d | + | D |
| TDA | - | - | - | d | + | + | d | d | d | - |
| Mobilité | + | + | - | + | + | + | + | + | + | - |
| NO ₃ | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

+ : positive, - négative, d : variable selon les espèces, *à 20°seulement
(Joly et Reynaud, 2003)

D3. Caractères antigéniques :

L'identification des *Enterobacteriaceae* se base d'abord sur des caractères biochimiques complétés, pour certains genres, par la sérotypie.

Celle-ci n'a de sens qu'une fois le genre ou l'espèce est déterminée car les communautés antigéniques inter-génères et inter-espèces sont nombreuses. (Denis et al., 2007)

Les entérobactéries possèdent plusieurs types d'antigènes différents :

- Antigène O : c'est l'antigène de la paroi constitué de lipo-polysaccharides(LPS) thermostable.
- Antigène H : c'est un antigène flagellaire (bactérie mobile) constitué de flagelline thermolabile.
- Antigène K : antigène capsulaire (Klebsiella, certaines souches d'*E. coli*, *Shigella*, *Citrobacter* et *Salmonella* « antigène Vi ») constitué de couches externes de polysaccharides qui peuvent masquer l'antigène O. Chez ces souches une ébullition de 2 heures permet de démasquer l'antigène O chez ces souches.
- L'antigène de Kunitz ou *Enterobacteriaceae* commun antigen (ECA) constitué d'une glycophospholipide est spécifique des entérobactéries.
- Antigène d'adhésines (pili, fimbriae) (Denis et al., 2007).

G. Caractéristiques des principaux genres et espèces :

❖ *Escherichia coli* :

Escherichia coli est la bactérie la mieux étudiée, c'est un organisme expérimental de choix pour beaucoup de microbiologistes (Sherwood et al., 2010). C'est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux (Avril et al., 1992). C'est un bacille à Gram négatif, asporulé, habituellement mobile par ciliature péritriche et pourvus de fimbriae (Singleton et Dussart, 1999).

✓ *E. coli* est responsable d'infections extradigestives :

- . Urinaires : elle est responsable de l'infection dans 70 à 80 % des cas.
- . Méningites néonatales (*E. coli* antigène capsulaire K1), infections respiratoires, post chirurgicales, septicémies.

✓ Infections digestives due à des *E. coli* ayant certaines particularités, on distingue :

- . *E. coli* Entéro-pathogène, responsable de gastro-entérites infantiles.
- . *E. coli* Entéro-toxinogène « turista », responsables de la diarrhée des voyageurs.
- . *E. coli* Entéro-invasive, responsable de syndromes dysentériques avec invasion de la muqueuse intestinale.
- . *E. coli* Entéro-hémorragique, responsable de diarrhées sanglantes liées à la production de toxines (qui se rapprochent biologiquement et physico chimiquement des toxines de Shigelle d'où l'appellation Shiga-like Toxine « SLT »), le sérotype responsable est *E. coli* O157.H7 (Grosjean et al., 2009 ; Odievre, 1999).

❖ ***Salmonella spp*** :

Le genre salmonella comporte 2 espèces (*S. enterica* et *S.bongori.*). Les Salmonelles sont des bactéries intestinaux des animaux vertébrés et se disséminent dans la nature par les excréta. Chez les animaux à sang chaud, elles sont souvent pathogènes (Nauciel, 2001). A la différence de la plupart des bactéries, les Salmonelles s'identifient et se désignent selon les sérotypes et non selon les espèces (Singleton et Dusart, 1999).

Du point de vue médical, il convient de distinguer deux grands groupes à l'intérieur du genre Salmonelle :

-Les Salmonelles majeures, agents de la fièvre typhoïde et paratyphoïdes.

-Les Salmonelles mineures habituellement responsable de toxi-infection alimentaire (Denis et al., 2007).

❖ ***Citrobacter sp*** :

Citrobacter freundii est le principal représentant de ce genre. L'antigène somatique (antigène O) et l'antigène capsulaire (antigène K) sont étroitement apparentés à ceux de Salmonella et d'Escherichia. Deux autres espèces, *C. diversus* et *C. amalonaticus* se rencontre très rarement dans les prélèvements cliniques (Yernault et Demedts ,1997).

Les bactéries du genre Citrobacter sont des agents pathogènes nosocomiaux opportunistes rares (Ryan, 2004). Ils peuvent entraîner des infections des voies urinaires, des bactériémies, des sepsis abdominaux et des abcès cérébraux ainsi que des pneumonies et d'autres infections néonatales, (MacDonald et al., 2003)

❖ ***Proteus sp*** :

Les *proteus* font partie de la flore commensale intestinale normale, considérés habituellement comme pathogènes chez les jeunes patients et opportunistes chez les patients âgés. (Coker et al., 2000). Ils provoquent parfois des infections urinaires chroniques avec formation de calculs. Ils sont aussi isolées de produits pathologiques variés : sécrétions trachéo-bronchiques, brûlures, pus divers. Ces bactéries se caractérisent par une forte uréase (Yernault et Demedts ,1997).

P.mirabilis et *P.vulgaris* sont flagellés et donnent sur milieu ordinaire un envahissement du milieu par essaimage, (Denis et al., 2007).

❖ ***Morganella morganii*** :

Anciennement appelée *P. morganii*, elle possède les caractères biochimiques caractéristiques des Proteus urée (+), TDA (+), elle est H₂S(-), elle se distingue du *Proteus rettgeri* par la décarboxylation de l'ornithine. L'aspect des colonies est identique à celui des Proteus mais

elles ne sont pas envahissantes, *M. morgani* est souvent isolée des urines ainsi que chez les patients hospitalisés après intervention chirurgicales (Amhis, 2009).

❖ **Groupe K.E.S (*Klebsiella - Enterobacter - Serratia*) :**

Dans le groupe *Klebsiella - Enterobacter - Serratia*, dit K.E.S., sont rassemblées des entérobactéries qui possèdent en commun les caractères suivants :

-La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive.

-Ce sont des Bactéries Pathogènes Opportunistes.

-Ces espèces sont souvent multirésistantes aux antibiotiques, (Avril et al., 1992).

✓ ***Klebsiella sp* :**

Les souches pertinentes au point de vue clinique appartiennent essentiellement à l'espèce *K. pneumonia* et *K. oxytoca*. Il s'agit de bacilles courts et immobiles à Gram négatif qui produisent une capsule muqueuse de grande taille (Yernault et Demedts, 1997).

Ces bactéries sont principalement isolées de broncho-pneumopathies aiguës ou subaiguës, mais aussi d'infections urinaires, hépato-biliaires ou de pus divers, (Avril et al., 1992)

✓ ***Enterobacter sp* :**

L'*Enterobacter* comprend plusieurs espèces dont *E. aerogens* et *E. cloacae* qui sont impliqués dans des infections opportunistes chez l'homme. Il est mobile et ne possède pas de capsule polysaccharidique (Goubau et Van Gompel, 2000). On le retrouve dans les infections urinaires et la pneumonie (Yernault et Demedts, 1997).

✓ ***Serratia sp* :**

Les *Serratia* sont des entérobactéries généralement mobiles. Elles donnent parfois des colonies pigmentées en rouge. (Avril et al., 1992). La bactérie la plus importante de ce genre est *Serratia marcescens*, responsable d'infection de l'arbre respiratoire et urinaire. (Denis et al., 2007).

II. LES ANTIBIOTIQUES :

1. Définition :

Les antibiotiques au sens strict, sont des produits élaborés par des microorganismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi synthétiques et les produits entièrement synthétiques (**Pebret, 2003**).

Les antibiotiques antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effet toxique pour les organismes supérieurs (**Nauciel et Vildé, 2005**). Ils sont capable de détruire (bactéricides) ou d'inhiber la croissance bactérienne (bactériostatiques) (**Pebret, 2003**). La résistance aux antibiotiques est un sujet d'inquiétudes important dans le traitement des nombreuses maladies infectieuses (**Grandadam et Guiraud, 2004**).

2. Classification des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la structure chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'activité (**Yala et al., 2001**).

3. Les familles d'antibiotiques :

3.1. La famille des bêta-lactamines :

3.1.1. Définition :

Les bêta-lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Elle se caractérise par la présence constante du cycle bêta-lactame associé à des cycles et des chaînes latérales variables (**Figure1**) qui expliquent les propriétés pharmacocinétiques et le spectre d'activité des différents produits, (**Cavallo et al., 2004**). Les bêta-lactamines ont un effet bactéricide sur les bactéries en voie de croissance. (**Nauciel et Vildé, 2005**)

3.1.2. Classification des bêta-lactamines :

1. Les Pénames :

Comprennent les Pénicilline G, pénicillines M, pénicilline A : aminopenicilline, carboxy-pénicilline, Acyl-amino-pénicillin et uréido-pénicillines, (**Mouton et al., 2000**)

- **Les aminopénicillines (pénicilline A) :** représentés par l'ampicilline et l'amoxicilline. Elles agissent sur certains bacilles à Gram négatif (*E. coli*, *P. mirabilis*), cependant elles sont détruites par les bêta-lactamases (**Pebret, 2003**).

2. Les céphèmes : Les céphalosporines :

Bien qu'elles possèdent un noyau commun avec les pénicillines, leur structure chimique est différente. Il en résulte une activité antibactérienne plus étendue que celle des pénicillines, notamment sur les bacilles à Gram négatif (**Grappin et al., 2007**).

- Céphalosporine de première génération (C1G): céfalotine, céfazoline. Elles ont un niveau d'activité assez limité vis-à-vis des bacilles à Gram négatif (**Mouton et al., 2000**).
- Céphalosporine de deuxième génération (C2G): Les céphalosporines de deuxième génération comprennent la céfuroxime, le céfamandole et la céfoxitine. Elles sont caractérisées par une meilleure résistance aux β -lactamases et un spectre d'action plus large, une activité à faible concentration, une bonne diffusion tissulaire (**Allain, 2008**).
- Céphalosporines de troisième génération (C3G): Céfotaxime - ceftazidime – ceftriaxone. Elles apportent un réel progrès pour les germes à Gram négatif, par une stabilité très supérieure aux bêta-lactamases. Cette activité se traduit, pour les germes à Gram négatif, par des CMI habituellement très basses, ce qui offre des possibilités accrues de bactéricidie (**Bégué et Astruc, 1999**).
- Céphalosporines de quatrième génération (C4G): Restent actives chez les entérobactéries ayant acquis une résistance aux C3G par hyperproduction d'une céphalosporinase, inactives en cas de bêta-lactamases à spectre étendu. Exemple_: Cefepime, Cefpirome (**Hincky, 2008**).

3. Les carbapénèmes

Dans ce groupe, le chef de file est l'imipénème. Il est doué d'un spectre d'activité très large. L'imipénème est résistant à la plupart des bêta-lactamases, y compris les bêta-lactamases à spectre élargi (**Nauciel et Vildé, 2005**).

4. Les inhibiteurs de bêta-lactamases :

Des molécules ayant une structure de pénicilline (mais dépourvus d'activité antibiotique significative) ont la propriété de se lier aux bêta-lactamases et les inhiber de manière irréversible. Leur association à des pénicillines permet de restaurer l'activité de ces dernières vis-à-vis des bactéries produisant des bêta-lactamases. Actuellement, sont disponibles l'association :

- . amoxicilline-acide clavulanique (Augmentin).
- . pipéracilline-tazobactam (Tazocillin).
- . Sulbactam, (**Nauciel et Vildé, 2005**).

La figure suivante expose les principaux cycles et antibiotiques représentatifs de la famille des bêta-lactamines.

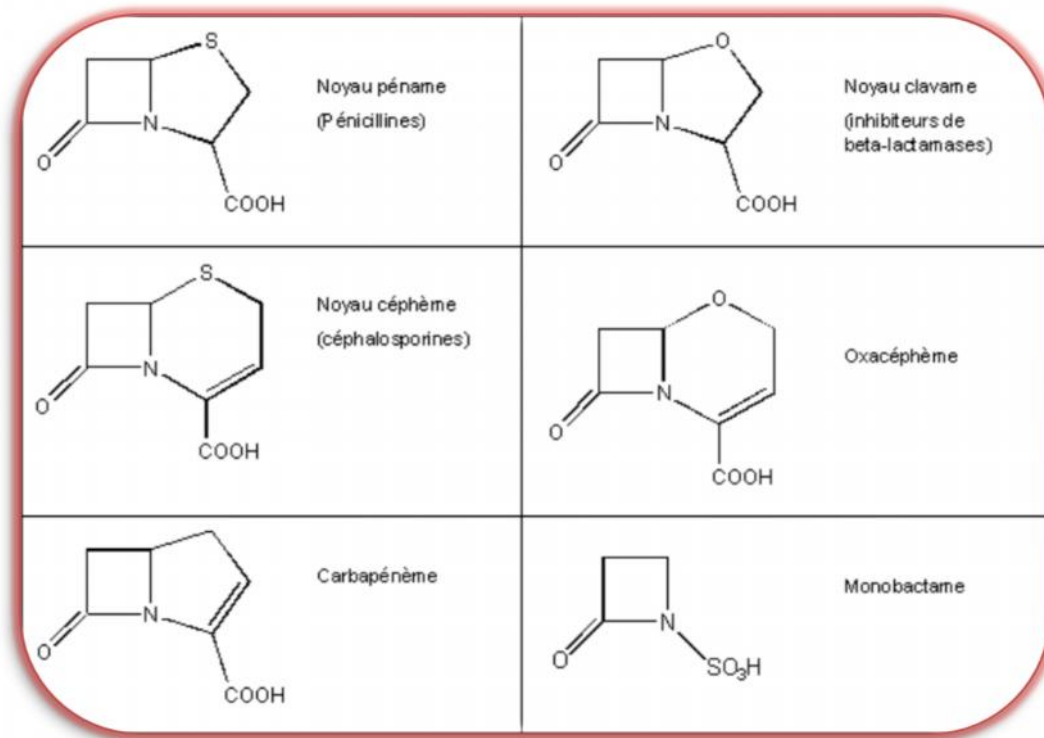


Figure 1 : Diversité des antibiotiques de type bêta-lactames (Tulkens *et al.*, 2002).

3.1.3. Pénétration des β -lactamines dans les bactéries:

Les β -lactamines sont des acides relativement forts et franchissent parfois difficilement les membranes bactériennes.

Pour les bactéries à Gram négatif il existe une « membrane externe », située à l'extérieur du peptidoglycane et la pénétration est conditionnée par des 19 protéines « les porines » dont l'assemblage délimite les pores ou point de pénétration, (Moulin *et al.*, 2002).

3.1.4. Mode d'action des bêta-lactamines :

Il s'agit de médicaments bactéricides qui ne sont actifs que chez les bactéries en phase de croissance et métaboliquement actives, (Mouton *et al.*, 2000)

Les protéines de liaisons des pénicillines (PLP) sont des peptidases dont ils existent plusieurs types impliquées dans la phase finale de la synthèse du peptidoglycane. la liaison avec l'antibiotique aboutit à la création de formes variables et aboutit à la lyse bactérienne (Mouton *et al.*, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005)

3.2. La fosfomycine :

La fosfomycine est un antibiotique naturel à large spectre, lentement bactéricide. Elle agit en inhibant la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne (**Pebret, 2003**). Quelle que soit sa forme, elle est active sur la plupart des entérobactéries. Dans les infections systémiques la fosfomycine ne doit pas être utilisée en monothérapie (**Lecomte, 1999**).

3.3. Les aminosides :

3.3.1. Définition :

Les aminosides sont des composés de sucres reliés à un hexose central par une liaison glycosidique, bactéricide. Ont un spectre antimicrobien large qui comprend les bactéries à Gram négatif et positif, et ils sont prescrits en milieu hospitalier pour les infections sévères (**Vaubourdolle, 2007**). Les aminosides sont souvent utilisés en association avec d'autres antibiotiques (β lactamines) (**Courvalin et al., 2006**).

3.3.2. Mode d'action des aminosides:

L'antibiotique se fixe sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien : ils provoquent une lecture incorrecte de l'information génétique on aura ainsi une altération de la synthèse des protéines (**Nauciel et Vildé, 2005**)

3.4. Sulfamides et thriméthoprime :

Ils sont fabriqués par synthèse et sont des agents bactériens à large spectre. Ils agissent bien sur les entérobactéries. Les sulfamides agissent comme des antimétabolites, ils prennent la place de l'acide folique qui est essentiel à la synthèse des acides nucléiques (**Stora, 2010**).

Le thriméthoprime et les sulfamides agissent à deux niveaux différents de la synthèse des folates ce qui assure un effet synergique. L'association des deux molécules (cotrimoxazole) bénéficie d'une bonne diffusion (**Nauciel et Vildé, 2005**).

3.5. Les quinolones :

3.5.1. Définition :

Ce sont des antibactériens synthétiques, bactéricides, ils sont à large spectre et possèdent une bonne activité sur les entérobactéries, bien absorbées et ont une bonne diffusion tissulaire (**Stora, 2010**).

3.5.2. Classification des quinolones :

Les quinolones sont subdivisées en deux familles :

-Quinolones antibactériennes urinaires : elles sont très actives sur *Escherichia coli* et sur les autres germes fréquemment rencontrés en infections urinaires, dont le principal composé est l'acide nalidixique.

-Quinolones à spectre large : (fluoroquinolones) : comprennent principalement la pefloxacin, l'ofloxacin et la ciprofloxacine. Elles sont beaucoup plus actives sur les germes résistants aux autres classes d'antibactériens (**Stora, 2010**).

3.5.3. Mode d'action :

Les quinolones exercent une inhibition sélective de la synthèse d'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliquées dans cette synthèse, qui sont l'ADN gyrase et l'ADN topoisomérase IV (**Soussy, 2007**).

III. LA RESISTANCE BACTERIENNE :

Le phénomène de résistance bactérienne est connu pour toutes les familles d'antibiotiques. Il concerne toutes les espèces bactériennes qui pourront développer des mécanismes différents selon leurs sensibilités initiales et leurs capacités à exprimer diverses résistances (**Vaubourdolle, 2007**).

Pour les microbiologistes, la résistance d'une bactérie à un antibiotique s'évalue par la concentration minimale inhibitrice (CMI) de cet antibiotique vis-à-vis de cette souche (**Fauchère et Avril, 2002**)

III.1. Définitions :

La résistance bactérienne est la faculté que possède une bactérie à pouvoir croître en présence d'un antibiotique (**Stora, 2010**).

Phénotype de résistance (antibiotype) :

La lecture de l'antibiogramme d'un germe permet de déterminer l'expression phénotypique de la résistance de ce germe à un ensemble d'antibiotiques et par la même de suspecter le ou les mécanismes de résistances. L'étude du phénotype peut aussi représenter une aide à l'identification des bactéries, ou la mise en évidence des souches épidémiques ou responsables d'infections nosocomiales (**Vaubourdolle, 2007**).

-Les souches « **sensibles** » sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est acceptable dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée (**Courvalin et al., 2006**).

-Les souches « **intermédiaires** » sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible (**Courvalin et al., 2006**).

Deux définitions de la résistance ont été proposées par l'OMS en 1971 :

-Une souche bactérienne est dite « **résistante** » quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

-une souche bactérienne est dite « **résistante** » quand la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre *in vivo* (**Courvalin et al., 2006**).

III.2. Support génétique de la résistance :

A. La résistance par mutation chromosomique :

Dans ce cas, la résistance dépend d'une mutation au niveau du chromosome bactérien, responsable de la modification ou la perte d'un gène pouvant entraîner une modification de la perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques ou qui peut entraîner une modification de la cible pariétale comme dans le cas des protéines liant les pénicillines (PLP) (**Vaubordolle, 2007**).

Ces mutations chromosomiques sont rares, spontanées (se produisent en l'absence de l'antibiotique), spécifiques, héréditaire et irréversibles (**Pebret, 2003**).

B. La résistance extra chromosomique :

La résistance peut provenir de l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides, de bactériophages ou de transposons. On parle de transfert horizontal de gènes de résistance (**Zogheib et Dupont, 2005**).

Trois mécanismes permettent ces transferts de plasmides : la transduction, transformation et conjugaison (**Baudry et Brezellec, 2006**).

III. 3. Les différents types de résistances :

On distingue deux types de résistance selon leur origine.

a. La résistance naturelle (ou intrinsèque) :

Certains antibiotiques sont naturellement inefficaces contre certaines bactéries. Cette résistance naturelle définit le spectre et l'action de l'antibiotique (**Mathieu et Fonteneau, 2008**).

La résistance naturelle est présente chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. L'information fait partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle détermine les phénotypes « sauvages » des espèces vis-à-vis des antibiotiques, (**Vaubordolle, 2007**), il en est ainsi de la résistance de toutes les entérobactéries qui sont naturellement résistantes aux pénicillines G et M les macrolides et apparentés (lincosamides, synergistines) et les glycopeptides. Classiquement, on classe les entérobactéries en 4 groupes en fonction de leur sensibilité naturelle aux Béta-lactamines. Les différents groupes sont exposés dans le tableau II :

Tableau II : Classification des entérobactéries selon leur mécanisme de résistance naturelle au bêta-lactamine :

| Groupe | Bactéries | Mécanismes de résistance |
|------------|--|---|
| Groupe I | <i>E. coli</i> <i>P. mirabilis</i> <i>Salmonella</i> spp <i>Shigella</i> spp | Aucun |
| Groupe II | <i>Klebsiella</i> spp <i>Citrobacter koserii</i> | Pénicillinase chromosomique |
| Groupe III | <i>Enterobacter</i> spp <i>Serratia</i> spp <i>Providencia</i> spp <i>Citrobacter freundii</i> <i>Hafnia alveii</i> <i>Proteus vulgaris</i> | Céphalosporinase inducible |
| Groupe IV | <i>Yersina</i> spp | Pénicillinase chromosomique Céphalosporinase inducible |

(Zogheib et Dupont, 2005)

La résistance naturelle est due, le plus souvent, à l'inaccessibilité de la cible à l'antibiotique ou à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique, ou, plus rarement à l'absence de la cible (Courvalin et al., 2006).

b. La résistance acquise :

La résistance acquise : résulte de la modification du patrimoine génétique. Cette résistance est évolutive : elle varie en fonction du temps, de la localisation (épidémie), et de l'utilisation des antibiotiques. Les gènes de résistances peuvent être acquis par transformation des gènes étrangers provenant des chromosomes d'autres espèces ou être transportés par des éléments mobiles (plasmides, transposons, intégrons). L'acquisition de la résistance peut aussi résulter d'une mutation chromosomique (Vaubordolle, 2007).

La résistance acquise ne se manifeste que chez certaines bactéries. Les bactéries résistantes sont sélectionnées par l'usage de l'antibiotique et leur proportion s'accroît avec le temps (Baudry et Brezellec, 2006).

III.4. Mécanismes biochimiques de la résistance :

A. Imperméabilité :

La membrane externe des entérobactéries est formée de lipopolysaccharides (LPS) dont la structure est hydrophile. Cette organisation explique une résistance naturelle aux antibiotiques hydrophobes et/ ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, V et M, macrolides, rifampicine, acide fusidique et glycopeptides) (**Bonnet, 2006**).

B. Excrétion par des systèmes d'efflux :

La résistance par système d'efflux apparaît être le principal mécanisme chez les bacilles à Gram négatif et divers gènes codent pour des protéines membranaires permettant l'efflux de l'antibiotique hors de la cellule et donc empêchent son accumulation cellulaire.

Chez *Escherichia coli*, le système multiple antibiotic resistance (MAR) est un système qui augmente le niveau de résistance à de nombreux antibiotiques dont les bêta-lactamines et les fluoroquinolones (**Philippon, 2008**).

C. Inactivation de l'antibiotique :

La résistance par destruction des molécules de l'antibiotique soit à l'extérieur de la bactérie (enzymes exocellulaire), soit dans la bactérie (endocellulaires ou périplasmiques) est soit naturelle, soit plus fréquemment acquise et touche plusieurs familles d'antibiotiques.

Chez la famille des bêta-lactamines, une étonnante diversité d'enzymes dénommées bêta-lactamases est maintenant individualisée (**Philippon, 2008**).

➤ Les bêta-lactamases :

Les β -lactamases constituent toujours le principal mécanisme de la résistance naturelle et acquise aux β -lactamines (**Philippon et al., 2006**), par ouverture du noyau bêta-lactame au niveau de la liaison amide en hydrolysant le pont amide du cycle β -lactame pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (**Barrial et al., 2006**). C'est le principal mécanisme de résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines (**Bonnet, 2006**).

Les bêta-lactamases peuvent être classées suivant le bêta-lactamine qu'elles hydrolysent de manière préférentielle en pénicillinases et céphalosporinases.

La classification moléculaire des β -lactamases a été proposée en premier lieu par Ambler en 1980 qui définit quatre classes d'enzymes désignées de A à D. Les β -lactamases des classes A, C et D sont des enzymes à sérine et celles de classe B sont des métallo- β -lactamases. (**Bush, 1999 ; Bonnet, 2006**) La classification de Bush rend compte des propriétés fonctionnelles des β -lactamases. Au sein de ces 4 classes structurales est

notamment dans la classe **A** qui est subdivisée en 6 groupes fonctionnels (tableau N° II) **(Bonnet, 2006)**.

Tableau III : Classification des β -lactamases

| Bush et al, 1995 | Classe moléculaire | Substrats préférés | Inhibition | |
|---------------------|-----------------------|---|-------------|------|
| | | | Clavulanate | EDTA |
| 1 | C | Céphalosporines | - | - |
| 2a | A | Pénicillines | + | - |
| 2b | A | Pénicillines, céphalosporines | + | - |
| 2be | A | Pénicillines, céphalosporines | + | - |
| 2br | A | Pénicillines | ± | - |
| 2c | A | Pénicillines, carbénicilline | + | - |
| 2d | D | Pénicillines, oxacilline | ± | - |
| 2e | A | Céphalosporines | + | - |
| 2f | A | Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes | + | - |
| 3 | B | Majorité des β -lactamines | - | + |
| 4 | ND | Pénicillines | - | ND |

(Bush et al., 1995).

ND : non déterminée.

➤ **Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) :**

Ce sont des enzymes récemment apparues à la suite de mutations des pénicillinases. Elles sont plasmidiques donc transférables et sensibles à l'action des inhibiteurs enzymatiques

(Emmanuel, 2004).

Elles sont très actives contre les pénicillines et moyennement actives contre les céphalosporines de première génération. Les mutations génétiques à l'origine des BLSE élargissent le spectre de ces enzymes et touchent également les céphalosporines de troisième génération (ceftazidime et céfotaxime) et les monobactames (aztréonam). Les bactéries produisant une BLSE n'hydrolysent pas les céphamycines (céfoxitine) ni les carbapénèmes **(Vora et al., 2010)**.

➤ **Enzymes inactivant les aminosides :**

Elles sont codées par des gènes situés sur des plasmides ou des transposons, plusieurs de ces enzymes ont été identifiées chez les entérobactéries. Chacun d'entre eux peut inactiver plus d'un aminoside, mais habituellement pas la totalité d'entre eux **(Schaechter, 1999)**.

D. Résistance par modification de l'affinité de la cible :

La modification de la cible peut entraîner une diminution de reconnaissance et une diminution de l'efficacité de l'antibiotique. Ce mécanisme d'action est observé chez de nombreux antibiotiques (béta-lactamines, aminosides, quinolones sulfamides) et chez de nombreuses espèces, mais il reste rare chez les entérobactéries (**Vaubourdolle, 2007**).

Plusieurs facteurs peuvent concourir à la résistance par modification de la cible : perte d'affinité des PLP pour les béta-lactamines par mutation, acquisition de gènes ou de fragments de gènes codant pour des PLP d'affinité diminuée ou hyperproduction de PLP normales (**Courvalin et al., 2006**).

II. Matériel et Méthodes :

Notre étude a été réalisée au laboratoire central de l'établissement public hospitalier (EPH) de Koléa durant une période de cinq mois (de février à juin 2013).

I. Matériel :

A. Matériel biologique :

-Souches bactériennes :

L'étude a porté sur 148 Souches isolées à partir de divers produits pathologiques (urines, hémoculture, pus) provenant de malades hospitalisés dans les différents services de l'hôpital, mais aussi de malades externes.

B. Matériel non biologique :

C'est le matériel classique utilisé au laboratoire de microbiologie. Il est représenté essentiellement par :

- ✚ Les écouvillons, les seringues, avec lesquels les prélèvements étaient réalisés.
- ✚ Les appareillages, la verrerie, les réactifs, les solutions, les disques d'antibiotiques, les milieux de culture, les galeries biochimiques (**voir annexe I**).

II. Méthodes :

II.1. 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 que dépend l'analyse bactériologique.

Il nécessite des conditions d'asepsie et de stérilité, doit se faire en absence d'antibiothérapie, à défaut ouvrir une fenêtre thérapeutique. 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 renseignement est identique à celui mentionné sur le produit pathologique.

A. Prélèvements d'urine : (examen cytot bactériologique des urines)

L'examen cytot bactériologique des urines (ECBU) est un examen explorant les infections urinaires. Le prélèvement se fait par recueil des urines du matin après lavage soigneux avec un antiseptique et rinçage à l'eau. On élimine la première partie de la miction et on recueille le milieu de la miction dans un flacon stérile (**Anglaret et Mortier, 2002**).

L'analyse des urines se fait selon la méthode de Kass modifiée, les urines sont diluées à 10^{-2} dans de l'eau distillée stérile,ensemencée sur gélose nutritive. Seules les cultures bactériennes monomorphes dépassant le seuil de 100 colonies sur boîte de gélose (soit un seuil 10^5 bactéries/ml d'urines) sont identifiées (**Djennane et al., 2009**).

B. Hémoculture :

L'hémoculture consiste à la mise en culture répétée du sang du malade présentant une fièvre isolée ou associée à des conditions particulières. **(Vouboudrolle., 2007)**

Le sang est recueilli dans des flacons contenant un bouillon de culture adapté.

Les flacons d'hémocultures sont incubés à 37°C dix jours, repiqués au moindre signe de positivité (trouble, hémolyse, coagulation, voile à la surface du sang) sur des milieux de culture adaptés, toute culture positive est identifiée.

C. Prélèvement de pus : (Examen cytot bactériologique du pus)

Les prélèvements de pus sont très divers dans leur localisation anatomique. Ces prélèvements arrivent au laboratoire sous plusieurs aspects : écouvillonnages (furuncles, escarres), biopsies (cutanées, tissulaire), pièces opératoires, liquides prélevés à la seringue (liquide ascite, pleural, péritonéal...). **(Remic, 2004)**

Les prélèvements sont ensemencés sur les différents milieux de culture, après incubation on procède à l'identification des différentes colonies bactériennes.

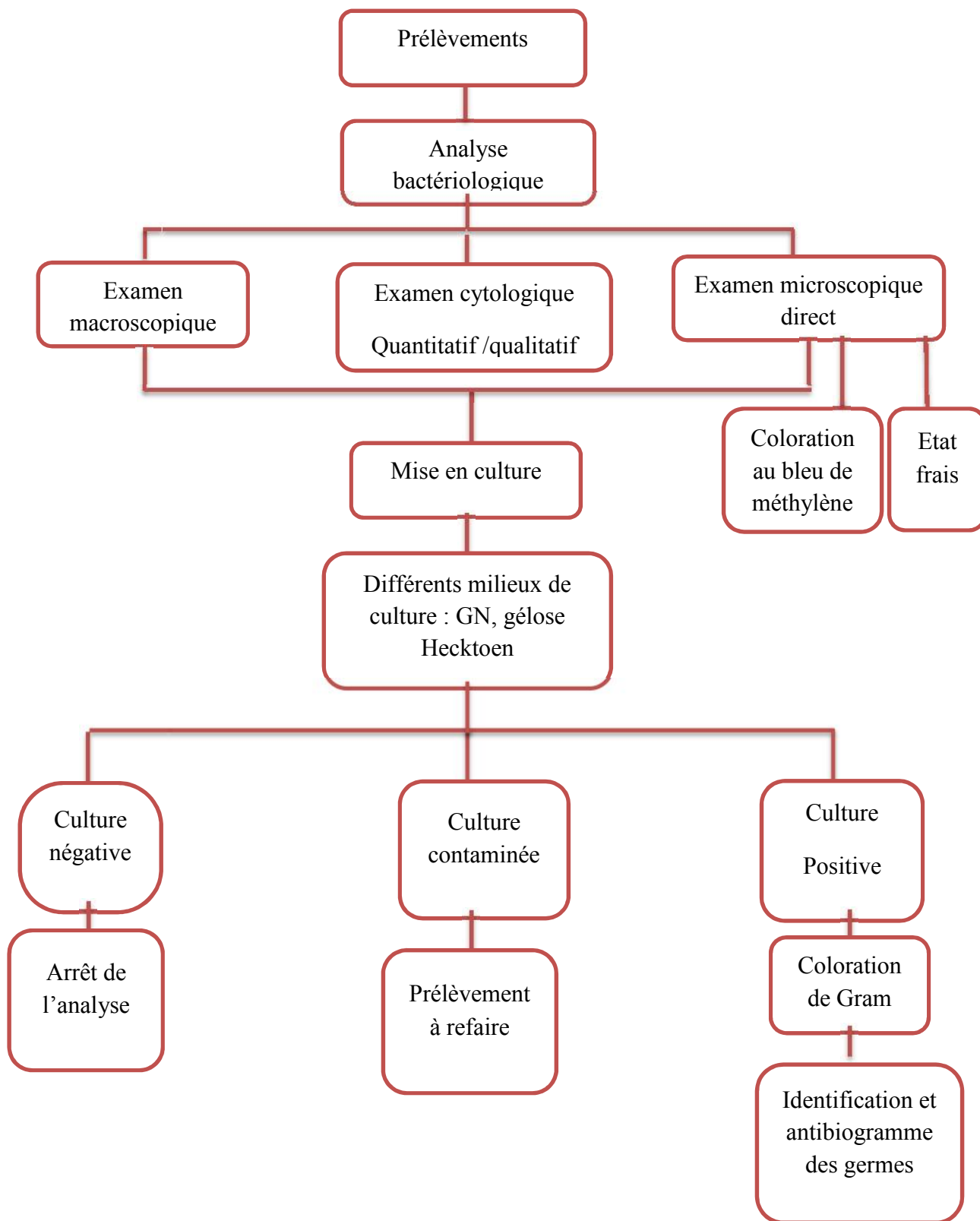


Figure 2 : protocole expérimentale de l'analyse des échantillons.

II.2. Techniques :

1. L'examen macroscopique :

On note à l'œil nu la présence d'un trouble, consistance, couleur ainsi que la viscosité, qui peut nous apporter les premières informations sur la présence d'une infection ou pas.

2. L'examen microscopique :

L'examen microscopique est fondamental. Il permet d'orienter le diagnostic. Dans tous les cas, il permet d'envisager la suite des examens à effectuer. En règle générale, l'analyse microscopique est une analyse à la fois cytologique et bactériologique.

A. L'état frais :

Une méthode rapide consiste à observer un matériel biologique ou d'une suspension bactérienne entre lame et lamelle ou sur cellules hématimétriques. L'observation se fait au microscope photonique à l'objectif 40 et permet :

- ✓ Une appréciation quantitative : numération des hématies et leucocytes.
- ✓ Une appréciation qualitative :
 - . Renseigne sur la morphologie et la mobilité des bactéries vivantes.
 - . Permet de distinguer les cellules d'accompagnement, les leucocytes apparaissent à contour irrégulier et de plus grande taille que les hématies qui sont brillantes et circulaires.
 - . Constater l'état des cellules : elles peuvent être intactes ou altérées.

B. Examen microscopique après coloration :

- **Coloration au bleu de méthylène** : « coloration non différentielle »

La coloration au bleu de méthylène est réalisée en faisant couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis correctement fixé. Le temps de contact est 10 à 15 minutes (ce temps dépend de la concentration du colorant), la lame est ensuite rincée à l'eau du robinet, séchée, puis observé à l'immersion. Les structures colorables « éléments cellulaire et bactéries » apparaissent bleues. **(Denis et al., 2011)**

3. Mise en culture :

Les prélèvements bactériologiques sont, en règle, ensemencés sur différents milieux solides : gélose nutritive (GN), gélose au sang cuit (GSC), gélose au sang frais (GSF), gélose Hektoen qui est un milieu sélectif pour les entérobactéries, ces milieux permettent la réalisation d'un isolement.

a. Inoculation :

Après le séchage des milieux coulés en boîtes de pétri, l'ensemencement se fait par la méthode des quadrants qui permet d'isoler les différentes bactéries contenues dans un

mélange ou par la méthode du râteau qui à partir d'un volume défini déposé sur la surface de la gélose, on étale le dépôt à l'aide d'un râteau en faisant tourner la boîte.

b. Incubation :

Les milieux ensemencés sont incubés à l'étuve avec des particularités :

-La gélose nutritive et Hektoen sont incubés à 37 °C pendant 24 heures.

-Les géloses au sang cuit et sang frais sont également incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures mais dans une atmosphère enrichie en CO₂ à l'aide d'une jarre vidée de l'oxygène.

c. Identification bactérienne :

✓ **L'identification macroscopique:**

L'observation de l'aspect morphologique des colonies bactériennes, de leurs pigmentations, de leurs odeurs et de leurs caractéristiques de croissance (vitesse, type respiratoire...) permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

Devant toute culture bactérienne on procède à l'identification comme suit :

-Pour les cultures polymorphes : les différents types de colonies sont purifiés par un réisolement sur gélose nutritive.

-Pour les cultures monomorphes on procède directement à l'identification.

✓ **L'identification microscopique :**

Elle est basée sur la **coloration de Gram** :

C'est la coloration de référence en bactériologie, elle est à la fois simple et rapide, elle permet de déterminer la morphologie des germes, leur modes de regroupement ainsi que la nature biochimique de la paroi bactérienne. **(Denis et al., 2011)**

Technique :

- . Préparer et fixer un frottis bactérien a la chaleur du bec bunsen.
- . Recouvrir au violet de gentiane (coloration primaire) pendant 1 minute.
- . Ajouter du Lugol (fixateur), laisser agir pendant 1 minute.
- . Jeter le lugol et rincer à l'eau.
- . Décolorer à l'alcool, la lame étant tenue inclinée, la durée de décoloration est variable selon l'épaisseur du frottis, stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau.
- . Recolorer à la fuchsine pendant 1 à 2 minutes, rinçage à l'eau puis séchage.

Lecture :

- . Examiner à l'immersion
- . Les bactéries à Gram positif se colorent en violet alors que les bactéries à Gram négatif se colorent en rose.

4. Identification biochimique des entérobactéries :

A-Test de l'oxydase : (pour l'étude du type respiratoire)

C'est le premier test à réaliser en routine et est fondamental pour orienter l'identification des bacilles Gram négatif, pour distinguer les entérobactéries des bacilles oxydatifs.

Principe :

Au cours de la respiration aérobie, l'accepteur final de la chaîne de transport d'électrons est une enzyme dite cytochrome oxydase ou le cytochrome aa₃.

La mise en évidence de celle-ci ne peut se faire que si la bactérie a un cytochrome c.

Les bactéries « oxydase positive » : aérobies strictes ou facultatives, elles possèdent les deux cytochromes C et aa₃.

Les bactéries « oxydase négatives » : aérobies facultatives, elles possèdent le cytochrome aa₃ seul ou bien anaérobies ne possédant aucun cytochrome.

Technique :

Sur une lame, déposer un disque imprégné du réactif, l'imbiber avec une goutte d'eau distillée stérile. Prélever une colonie parfaitement isolée avec une pipette Pasteur boullée et l'écraser sur le disque pendant une dizaine de secondes. Observer immédiatement.

Lecture :

- . Apparition d'une coloration rose violette : oxydase +
- . Absence de coloration rose/violette : souche oxydase –

B-Galerie classique de l'identification des entérobactéries :

1. Métabolisme glucidique :

▪ Milieu Triple- sugar- iron (TSI) :

Principe :

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du glucose, lactose et saccharose (avec ou sans production de gaz), et la production de sulfure d'hydrogène(H₂S).

Technique :

Ensemencer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées

Incuber à 37°C pendant 24 heures (capsules desserrées) de manière à favoriser les échanges gazeux.

Lecture :

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

- ✓ Fermentation de glucose : Culot jaune : glucose fermenté.
Culot rouge : glucose non fermenté.

- ✓ Fermentation du lactose et/ou du saccharose :
 - . Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés.
 - . Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s).
 - ✓ Production de gaz : apparition de gaz dans le culot avec ou sans décollement de la gélose.
 - ✓ Formation d'H₂S : formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.
- **Recherche de la Béta-galactosidase:**

Principe:

IL s'agit de la recherche d'une β -galactosidase qui dégrade le lactose en galactose et glucose. Pour qu'une bactérie puisse utiliser le lactose, il faut qu'elle possède deux enzymes : la lactose perméase et la β -galactosidase.

Le test consiste à mettre en contact la bactérie avec un analogue structural du lactose (ONPG : Ortho Nitro Phényl Galactoside).

Technique :

- réaliser une suspension de la bactérie à tester.
- ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG.
- incubé de 30 min à 24 heures à 37°C.

Lecture :

- ✓ Apparition d'une coloration jaune : souche β -galactosidase +, ONPG +
- ✓ Pas de coloration jaune : souche β -galactosidase-, ONPG –

2. Etude du type respiratoire

- **Milieu citrate de Simmons :**

Principe :

Le milieu ne contenant qu'une seule source de carbone (citrate), seules les bactéries possédant une citrate perméase sont capables de se développer. L'utilisation du citrate se traduit par une alcalinisation du milieu lorsque la dégradation est complète et en aérobiose.

L'alcalinisation est observée par le virage de l'indicateur de pH, le bleu de bromothymol, du vert au bleu.

Technique :

La pente estensemencée par des stries à partir des colonies à étudier.

Une incubation de 24 à 48 h à 37°C est nécessaire pour la plupart des entérobactéries.

Lecture

Les bactéries « citrate positives » présentent une culture sur la pente avec alcalinisation du milieu (gélose bleue).

Pour les bactéries « citrate négatives », aucune culture n'est visible et le milieu a gardé sa couleur d'origine (verte).

▪ **Etude de la voie fermentaire utilisée :**

Principe :

Elle se fait par l'utilisation du bouillon Clark et Lubs, l'acidification du milieu est mise en évidence par l'utilisation de deux tests :

- Le test du rouge de méthyle (RM) met en évidence les fermentations acides, en particulier la fermentation acide mixte
- Le test de Voges prosckauer (VP) met en évidence la voie du butylène-glycol.

Technique :

-Ensemencer en masse : 2 à 3 gouttes de suspension bactérienne dense sur le milieu Clark et Lubs.

-Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture :

Après l'incubation, il faut dans un premier temps divisé en deux le contenu du milieu Clark et Lubs.

Mettre dans un tube quelques gouttes du réactif RM :

- . Coloration rouge : RM+
- . Coloration jaune : RM-

Dans le deuxième tube mettre quelques gouttes du réactif VP1+VP2 :

- . Coloration rouge: VP +
- . Coloration jaune: VP -

3. Etude du métabolisme protéique :

▪ **La recherche des décarboxylases (ODC, LDC, ADH) :**

Principe :

La fermentation du glucose entraîne une baisse importante du pH. La production, ainsi que l'activité, des décarboxylases sera favorisé par un pH acide. D'autre part la lecture et l'alcalinisation nécessite une anaérobiose relative.

Les décarboxylases sont :

- . La lysine décarboxylase(LDC)
- . L'ornithine décarboxylase (ODC)

. L'arginine dihydrolase (ADH)

Technique :

Le test est réalisé avec le milieu Moeller réparti dans 4 tubes à hémolyse différents :

Le premier tube constitue le témoin, il contient essentiellement du glucose en petite quantité et du pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH.

Les trois autres tubes contiennent en plus du glucose, un des trois acides aminés suivant : lysine, ornithine, arginine.

-Ensemencer le milieu Moeller avec une goutte de suspension bactérienne, agiter si le tube n'est pas plein le recouvrir de vaseline stérile afin de créer une anaérobiose relative.

-Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C.

Lecture :

-Dans un premier temps il y a acidification du milieu par l'utilisation du glucose : le milieu vire du violet au jaune.

-Dans un deuxième temps, la décarboxylation de l'acide aminé entraîne une alcalinisation du milieu : virage du milieu du jaune au pourpre.

-Le tube témoin doit virer au jaune, car il ne contient pas d'acide aminé.

▪ **Recherche de l'uréase, tryptophanase et la tryptophane désaminase (TDA) :**

Principe :

La recherche de ces enzymes se fait sur milieu urée- indole. C'est un milieu liquide contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge de phénol, non ensemencé ce milieu est de couleur jaune-orangé.

Technique :

-mettre quelques colonies en milieu Urée-indole.

-Incuber 24 heures à 37°C.

Lecture : La lecture se fait en trois étapes :

1- Urée :



- ✓ Réaction positive: le milieu vire au rose fuchsia. (Bactérie uréase +).
- ✓ Réaction négative : le milieu ne vire pas. (Bactérie uréase-).

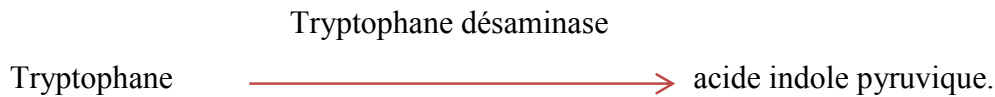
2- Recherche de la tryptophanase : (production d'indole)



L'indole produit donne une coloration rouge en présence du réactif de Kovacs.

- ✓ Anneau rouge en surface : indole positif.
- ✓ Anneau incolore ou jaune : indole négatif.

3- Recherche de la Tryptophane désaminase (TDA) :



- ✓ L'acide indole-pyruvique est mis en évidence grâce à la coloration brune (marron chocolat) caractéristique qu'il donne avec le perchlorure de fer.

C- La Galerie API 20 E :

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

Principe :

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

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

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

Technique :

Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou physiologique dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures d'entérobactéries, préparer une suspension bactérienne dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile.

Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette Pasteur.

-Refermer la boîte d'incubation.

-Incuber 24 heures à 37°C.

Lecture et interprétation :

La lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun alors que les tests négatifs sont toujours codés 0.

En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui correspondent au profil biochimique du micro-organisme étudié.

Identification :

Elle est réalisée à partir de la base de données : à l'aide du Catalogue Analytique : rechercher le profil numérique dans la liste des profils

5. Etude de sensibilité aux antibiotiques :

L'antibiogramme :

Antibiogramme : 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.

Milieu pour antibiogramme :

-Gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.

-Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

A. Technique :

L'antibiogramme est pratiqué selon les techniques préconisées par le CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) recommandées par l'OMS (organisation mondiale de la santé) selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé

Pour valider nos résultats, une souche témoin est utilisée comme référence : *Escherichia coli* ATCC 25922. **(Rahal et al., 2011)**

A.1. préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette quelques colonies bien isolées et identiques dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.

-Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 MF ou à une D.O. de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm.

A.2. ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux 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.
- Dans le cas où l'ensemencement plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

A.3. Application des disques d'antibiotiques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de six disques d'antibiotiques par boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotiques cité dans le tableau suivant à l'aide d'une pince stérile et ne pas déplacer les disques après application.

Tableau VI : Liste des antibiotiques utilisés.

| Antibiotique | Abréviation | Charge des disques | Classe |
|---------------------------------|-------------|--------------------|------------------------------|
| Amoxicilline | AML | 25 µg | β-Lactamines (Pénicilline A) |
| Ticarcilline | TIC | 75 µg | |
| Amoxicilline+acide clavulanique | AMC | 30 µg | |
| Céfazoline | CZ | 30 µg | |
| Céfoxitine | FOX | 30 µg | |
| Céfotaxime | CTX | 30 µg | |
| Imipénème | IPM | 10 µg | β-Lactamines (Carbapénèmes) |
| Acide nalidixique | NA | 30 µg | Fluoroquinolones |
| Ciprofloxacine | CIP | 5 µg | |
| Gentamicine | GN | 15 µg | Aminosides |
| Sulfamine+triméthoprime | SXT | 25µg | Sulfamides |
| Colistine | CS | 10 µg | Polypeptides |
| Chloramphénicol | C | 30 µg | Phénicoles |
| Fosfomicyne | FF | 50 µg | Fosfomicyne |

A.4. Incubation :

- 18 heures à 35°C

A.5. Lecture :

- ✓ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

- ✓ Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- ✓ 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**. (**voir annexe**)

B. Tests complémentaires : Recherche de la bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries :

1. Test de synergie :

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de bêta -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

Technique :

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10µg) a 30mm centre a centre d'un disque de C3G (Cefotaxime : CTX 30µg ou Ceftriaxone : CRO 30µg). Incuber 18H à 35°C.

Remarque : Cette technique permet la mise en évidence des TEM et SHV.

Lecture :

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques d'AMC et CTX (**Rahal et al., 2011**).

En plus des tests de synergies, la détection de la bêta -lactamases à spectre élargi peut être confirmée par :

2. Le test du double disque :

Technique :

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

- A partir d'une culture de 18 heures, préparer une suspension d'une opacité égale à 0.5 Mc Farland.
- Ensemencer la gélose de Mueller Hinton selon la technique de l'antibiogramme.
- Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) a une distance de 30mm (centre à centre).
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante, la boîte sera déposée couvercle vers le haut.
- Après 1heure d'incubation, ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX.
- Incuber la boîte 18 H à 35°C (**Rahal et al., 2011**).

Lecture et interprétation :

- ✓ Le test du double disque est **Positif** quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué Après diffusion du disque AMC est \geq de 5mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.
- ✓ L'interprétation du test consiste à répondre résistant pour toutes les bêta-lactamines sauf l'imipenème et la céfoxitine.

Pour l'AMC : il faut répondre selon l'interprétation du diamètre de la zone d'inhibition.

III. Résultats et discussion :

Au cours de la période d'étude s'étalant du mois de février au mois de juin 2013, 1893 prélèvements ont été analysés au Laboratoire central de l'EPH de Kolea « unité de microbiologie ». Parmi les 1893 prélèvements reçus, des différents services hospitaliers (médecine interne, maladies infectieuses, chirurgie, pédiatrie et néphrologie) ainsi que ceux provenant de malades externes, nous avons isolé et identifié 148 souches d'entérobactéries.

1. Cultures et origine des prélèvements :

Les résultats des cultures des 1893 prélèvements sont présentés dans la figure 3.

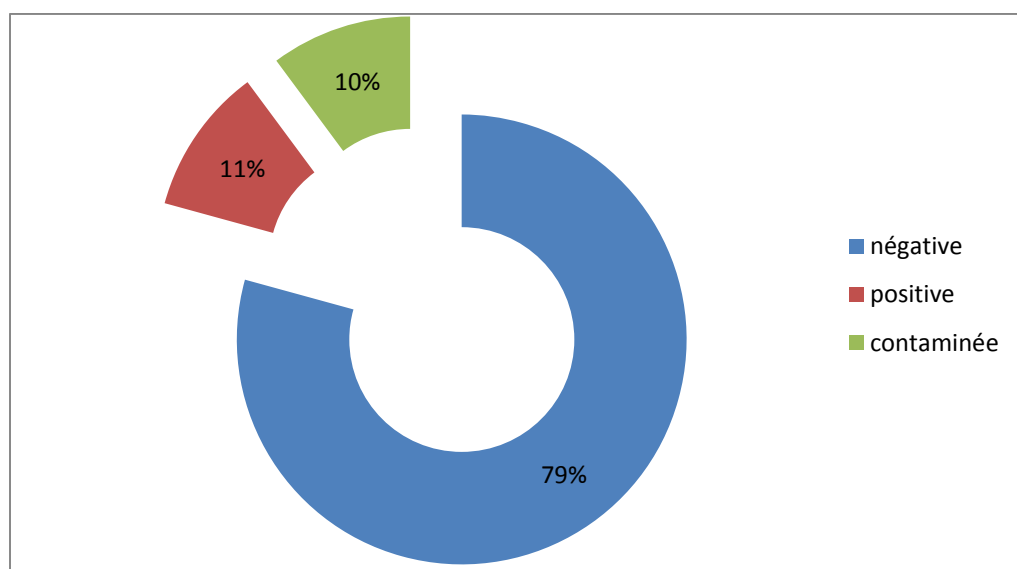


Figure 3 : Répartition des prélèvements selon leurs cultures

Tableau V : Origine selon la culture des prélèvements.

| Origine | Positif | Négatif | Contaminés | Total |
|-------------|---------|---------|------------|-------|
| ECBU | 132 | 1284 | 153 | 1569 |
| ECB de pus | 57 | 146 | 20 | 223 |
| Hémoculture | 11 | 71 | 19 | 101 |
| total | 200 | 1501 | 192 | 1893 |

Sur les 1893 prélèvements analysés, 200 se sont révélés positifs soit un taux de 10,57 %, alors que 1501 sont négatifs soit un taux de 79,29%. Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui, après culture sur les différents milieux utilisés, montrent un développement bactérien.

On note que les cultures négatives issues des différents prélèvements sont élevées avec un taux de 79,29%, cela peut être dû à une mauvaise orientation du diagnostic (infection virale ou fongique), cela peut être dû aussi à une antibiothérapie préalable dans le cas d'un

examen de contrôle, ou le cas des bactéries anaérobies qui nécessite des techniques bactériologiques inhabituelles, en l'absence d'oxygène.

Nous constatons également que 192 prélèvements se sont révélés contaminés 10,14%, la contamination peut avoir deux origines; soit au niveau du patient donc au cours du prélèvement lui-même, soit au laboratoire au cours du traitement. Dans les deux situations, la principale cause est le manque d'hygiène qui engendre l'inoculation de bactéries de l'environnement qui ne sont pas en relation avec l'infection mais qui peuvent coloniser le malade et provoquer chez lui des infections nosocomiales.

2. Distribution des souches bactériennes isolées :

Parmi les 200 prélèvements positifs, on a obtenu 213 souches bactériennes isolées à partir des différents prélèvements. Les résultats sont présentés dans la figure 4.

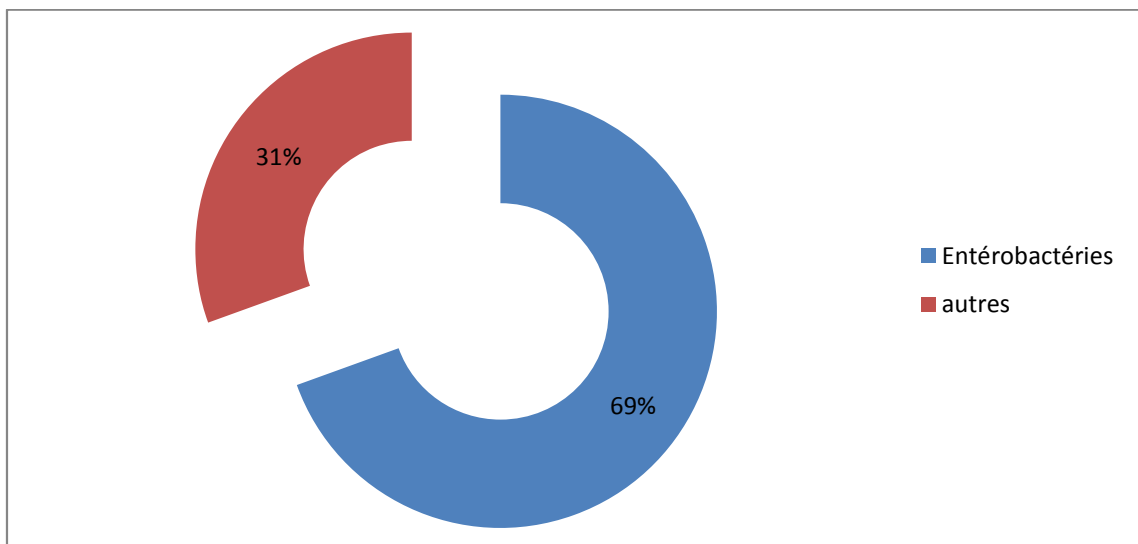


Figure 4: Répartition des résultats positifs selon les germes isolés

A partir des prélèvements positifs, on remarque que la fréquence des entérobactéries isolées à partir des différents prélèvements est importante, on a 148 souches d'entérobactéries soit une fréquence de 69,48 %, ces résultats concordent avec le fait que les entérobactéries soient parmi les bactéries les plus retrouvées en pathologie humaine par rapport aux autres souches bactériennes (*Staphylocoques*, *Streptocoques*, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*) qui sont isolés avec une fréquence de 30,52%. D'une façon globale, les bactéries les plus fréquemment isolées des infections communautaires et hospitalières appartiennent à l'espèce *Escherichia coli* et autres entérobactéries. D'autres bacilles à Gram négatif (*Pseudomonas sp.*) ou cocci à Gram positif (*Staphylococcus sp.*) sont moins souvent en cause (**Weber et al., 2004**).

3. Répartition des souches d'entérobactéries par services :

La répartition des souches d'entérobactéries par services est donnée dans la figure 5.

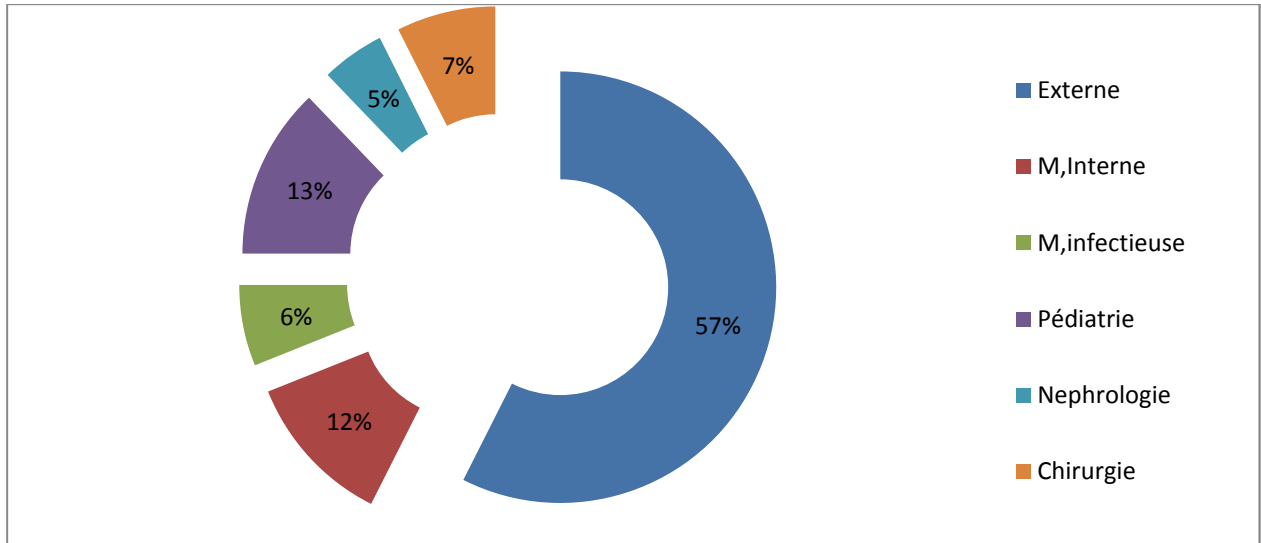


Figure 5 : Répartition des souches par services.

Légendes : M. interne : médecine interne / M. infectieuses : maladies infectieuses

Les souches sont le plus fréquemment isolées au niveau du service externe avec un taux de (57,43%) car le nombre de prélèvements reçus à ce niveau est plus élevé que pour les services internes, suivie par le service de pédiatrie (12,84 %), médecine interne (11,49%), chirurgie (7,43%), maladies infectieuses (6,08 %) et néphrologie avec un taux de (4,73%). **(Voir tableau XI annexe III).** Ces taux d'infections enregistrés au niveau des différents services de l'hôpital peuvent être dû à de potentiels infections nosocomiales.

4. Répartition des souches d'entérobactéries par sexe :

La figure ci- dessous représente les taux d'infections chez les deux sexes

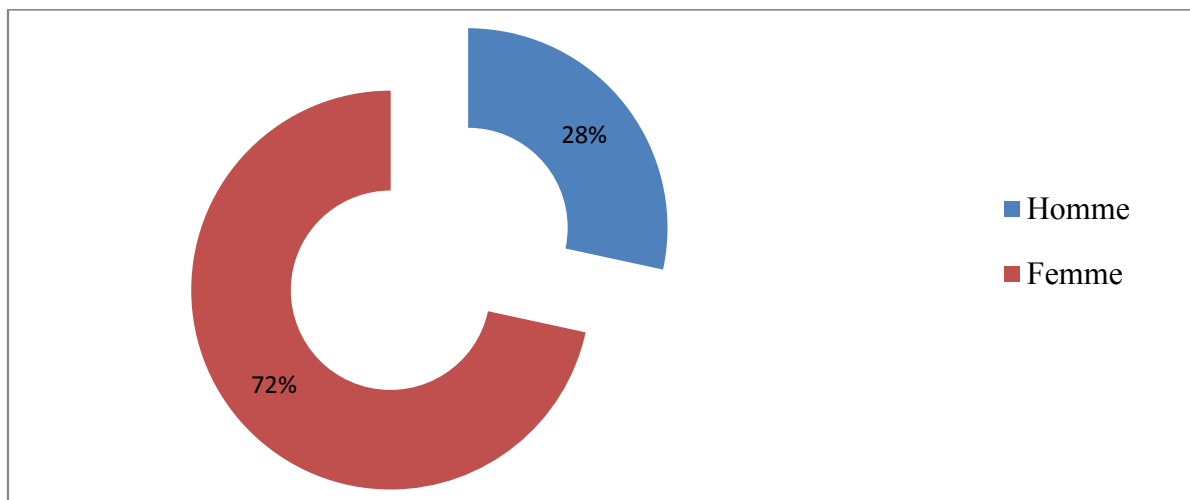


Figure 6: Pourcentage des patients infectés chez les deux sexes.

Parmi les 148 cas d'infections causées par les entérobactéries 106 d'entre eux appartiennent au sexe féminin avec un taux de 71,62 % et 42 autres appartiennent au sexe masculin avec un taux de 28,38%.

La prédominance du sexe féminin peut être expliquée par le fait que le grand nombre des souches isolées est d'origine urinaire et que la longueur de l'urètre intervient à l'évidence, protégeant l'homme beaucoup mieux que la femme (Caron, 2002).

5. Répartition des souches d'entérobactéries par produit pathologique :

La répartition des souches par type de prélèvements est donnée dans le tableau VI.

Tableau VI: Répartition des souches d'entérobactéries par produit pathologique

| souches bactériennes | produit pathologique | | | Total | % |
|---------------------------------|----------------------|-------|------|-------|-------|
| | urine | pus | sang | | |
| <i>Escherichia coli</i> | 77 | 10 | 2 | 89 | 60,14 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 9 | 9 | 1 | 19 | 12,84 |
| <i>Enterobacter spp</i> | 2 | 3 | 0 | 5 | 3,38 |
| <i>Enterobacter agglomerans</i> | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,68 |
| <i>Citrobacter spp</i> | 1 | 3 | 0 | 4 | 2,70 |
| <i>Citrobacter diversus</i> | 1 | 0 | 0 | 1 | 0,68 |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,68 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 6 | 6 | 0 | 12 | 8,10 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 1 | 1 | 0 | 2 | 1,35 |
| <i>Morganella morganii</i> | 2 | 5 | 0 | 7 | 4,73 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 1 | 3 | 0 | 4 | 2,70 |
| <i>Serratia sp</i> | 0 | 2 | 0 | 2 | 1,35 |
| <i>Salmonella spp</i> | 0 | 0 | 1 | 1 | 0,68 |
| total | 100 | 44 | 4 | 148 | 100 |
| % | 67,57 | 29,73 | 2,70 | 100 | |

D'après le tableau VI, on remarque que la majorité des souches est d'origine urinaire avec un pourcentage de 67,57 % de la totalité des souches isolées. Le taux des souches d'entérobactéries isolées à partir du pus représente 29,73% du total de nos souches, Les hémocultures étaient positives dans 2,70% des cas.

On note l'abondance des infections urinaires ; car la plus part des infections urinaires sont dues à des bacilles à Gram négatif comme *Escherichia coli* qui est le plus souvent en cause Les autres bactéries à Gram négatif rencontrées communément sont les *Proteus* et *Klebsiella* (Perrin, 2000).

6. Répartition des souches d'entérobactéries isolées par espèce:

La **figure 7** donne la répartition des souches d'entérobactéries par espèces.

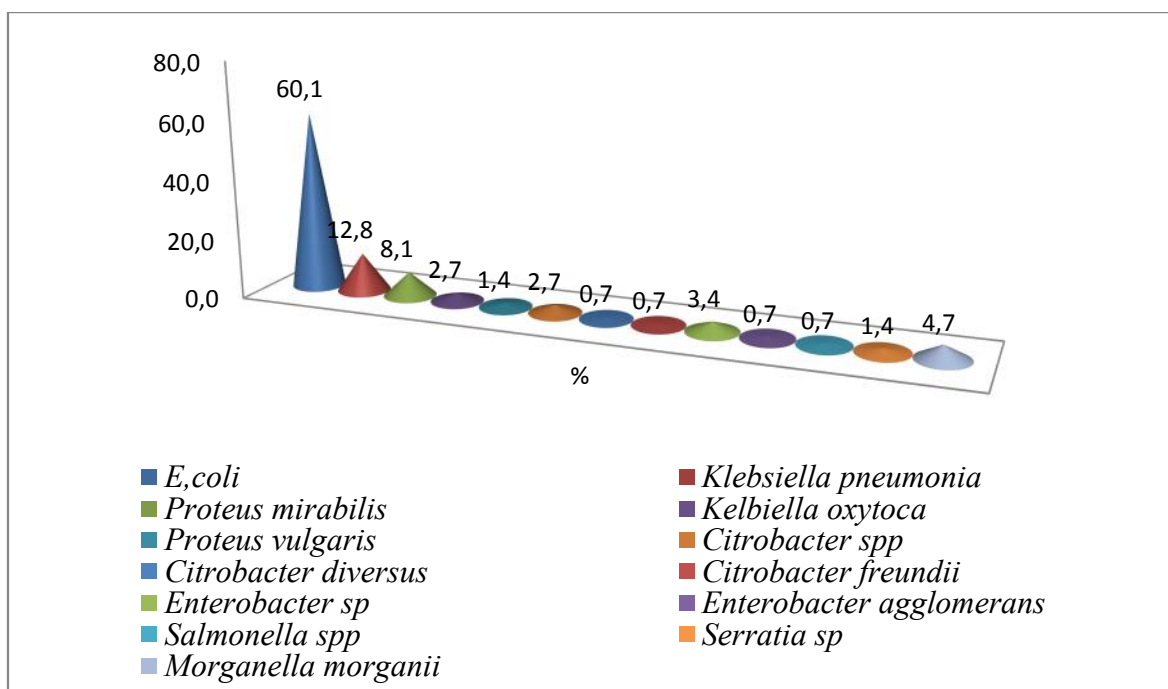


Figure 7: Répartition des souches d'entérobactéries par espèces

On note d'après cette figure qu'*Escherichia coli* est la souche la plus prédominante avec un taux de 60,14%, retrouvées presque dans tous les services; suivi, par ordre de prévalence décroissante, de l'espèce *Klebsiella pneumonia* 12,84% et de *Proteus mirabilis* 8,10 %. Les autres souches viennent à des taux inférieurs comme rapporté dans le tableau VI et la figure 7.

E. coli est l'une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. Elle est responsable des infections des voies urinaires, Certains sérotypes (K1 en particulier) sont capables d'induire des septicémies néonatales compliquées ou non de méningites. De nombreuses autres infections peuvent se rencontrer, certaines localisées aux voies digestives, d'autres aux voies génitales et respiratoires. (Zahar et Moumile, 2004)

7. Sensibilités et résistance des principales souches étudiées aux antibiotiques testés :

L'antibiogramme effectué sur chaque souche a permis d'étudier leur comportement à l'égard de plusieurs antibiotiques tel que :

- . Les bêta-lactamines : (amoxicilline, amoxicillines +acide clavulanique, céfazoline, céfoxitine, céfotaxime et imipenème)
- . Les aminosides : (gentamicine)
- . Les quinolones : (acide nalidixique, ciprofloxacine)
- . Autres : (cotrimoxazole, fosfomycine).

7.1. *Escherichia coli* :

La résistance d'*E. coli* aux antibiotiques a été testée sur 11 types d'antibiotiques. Les taux de résistance et de sensibilité observés sont illustrés dans la figure suivante.

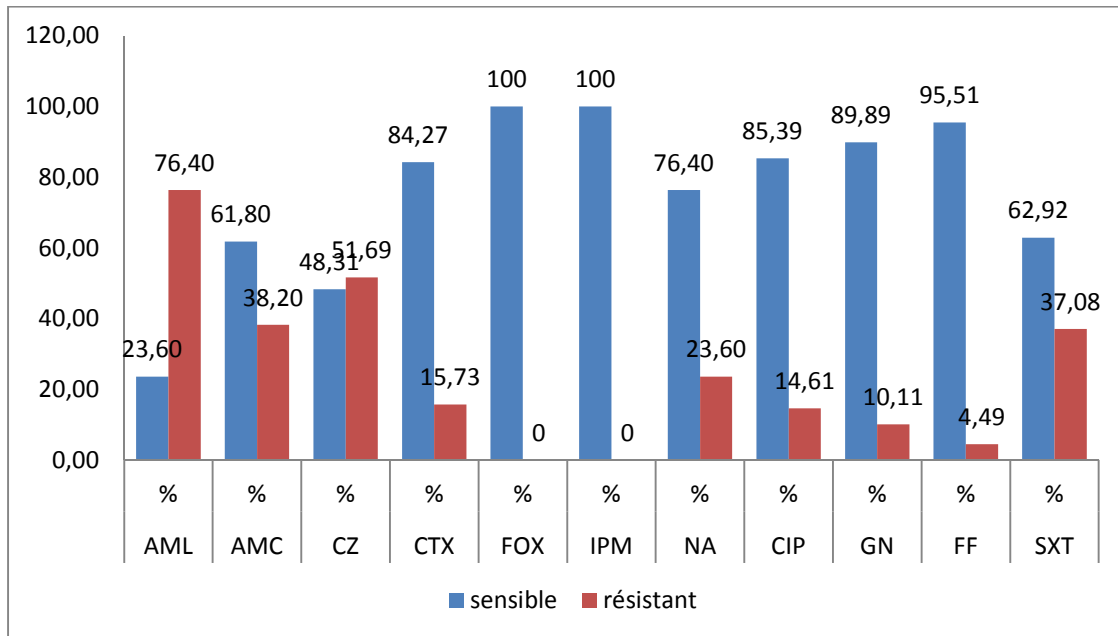


Figure 8 : Répartition des profils phénotypiques aux antibiotiques des souches d'*E. Coli*

Les antibiotiques : AML : amoxicilline. AMC : amoxicilline+ acide clavulanique. CZ : Céfazoline. CTX : Céfotaxime. FOX : céfoxitine. IPM : imipénème. NA : Acide-nalidixique. CIP : Ciprofloxacine. GN : gentamicine. FF : fosfomycine SXT : Triméthoprime-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)

On note que 76,40 % des souches d'*E. coli* sont résistantes à l'amoxicilline et 38,20 % sont résistantes à l'amoxicilline + l'acide clavulanique. 51,69% des souches sont résistantes à la céfazoline. 15,73 % des souches ont présenté une résistance aux céfotaxime et cela est dû à la production de BLSE. Aucune résistance n'a été enregistrée vis-à-vis du céfoxitine et l'imipénème.

Le taux de résistance aux quinolones était de 14,61 % pour la ciprofloxacine et de 23,60 % pour l'acide nalidixique. Pour les autres antibiotiques, seule la fosfomycine était active avec seulement 4,49 % de résistance. Les souches étaient résistantes au cotrimoxazole dans 37,08 % des cas, la résistance à la gentamicine était de 10,11%.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par **Rahal et al. (2012)**, dans le cadre de l'étude effectuée par le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (AARN), qui a réalisé une étude à partir des résultats des différents laboratoires médicaux lors de son 13^{ème} rapport (janvier à décembre 2011). La fréquence de

la résistance chez *E. coli* pour 2339 souches était de 73,79% à l'amoxicilline ; 31,56% à l'amoxicilline + l'acide clavulanique ; 12,38% au céfotaxime ; et aucune résistance à l'imipénème. Pour les quinolones, la résistance à la ciprofloxacine était de 20,46% et 32,07% pour l'acide nalidixique. la résistance était de 2,49% à la fosfomycine ; 45,91% pour le cotrimoxazole et 9,67 % pour la gentamicine.

Par contre, nos résultats sont supérieurs à ceux d'une étude effectuée en Tunisie par **Ben Haj Khalifa et Khedher (2010)**, les taux de résistance aux antibiotiques des isolats d'*E. coli* à l'hôpital et en ambulatoire étaient les suivants: amoxicilline (33,3%), amoxicilline + acide clavulanique (17%), céfotaxime (2,6%), gentamicine (4,1%), sulfaméthoxazole + triméthoprime (27,3%) et la fosfomycine (0,2%).

7.2. *Klebsiella pneumoniae* :

Nous avons identifiés 19 souches de *Klebsiella pneumoniae*, la figure ci-dessous montre le taux de résistance des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques testés.

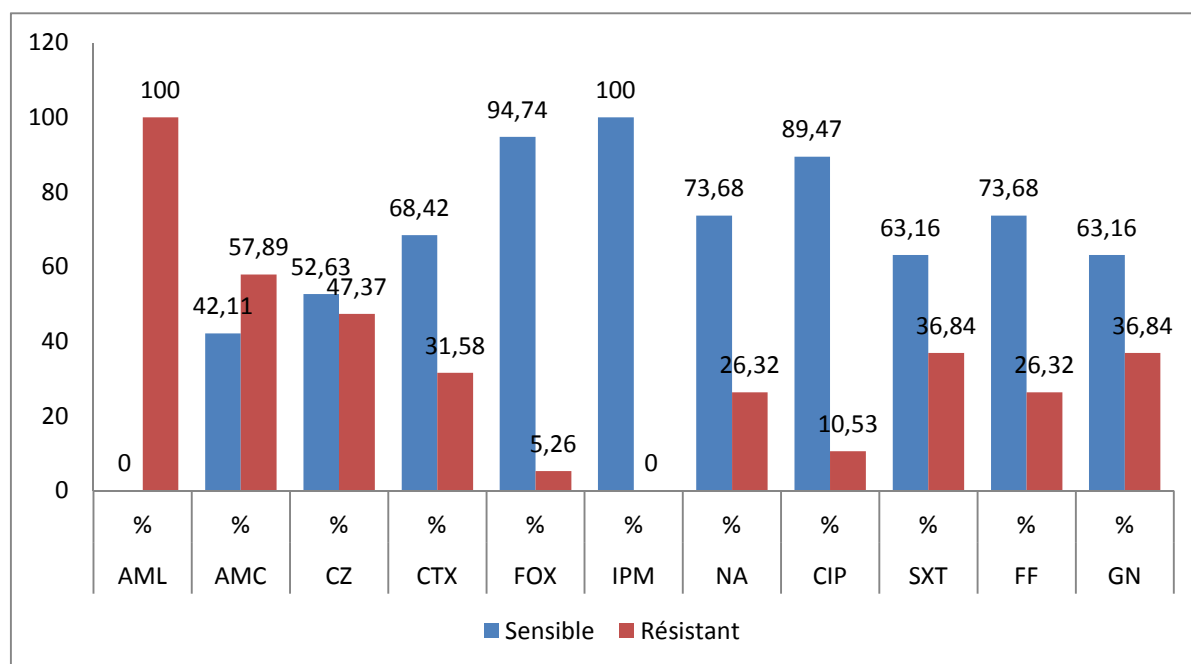


Figure 9 : Pourcentage de résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées sont résistantes à 100% à l'amoxicilline ; 57,89% des souches sont résistantes à l'amoxicilline+ l'acide clavulanique ; 47,37% à la céfazoline ; 5,26% à la céfoxitine ; 31,58% des souches sont résistantes au céfotaxime par la production de BLSE ; l'imipénème reste actif à 100%.

K. pneumoniae (entérobactéries du groupe 2) est naturellement résistante aux pénicillines (amoxicilline, ticarcilline) par production d'une pénicillinase chromosomique de classe A appelé SHV. (Gharout et al., 2008)

En ce qui concerne la résistance acquise, plusieurs cas de résistances ont été référenciés et la diversité peut être très grande (Bonnet, 2006).

Nos résultats concordent avec les résultats obtenus par de l'AARN en ce qui regarde le taux de résistance de l'association amoxicilline- acide clavulanique 57,31% ; la céfazoline 60,55% ; le céfotaxime 51,69% et la céfoxitine 6,94 %.

L'acide nalidixique et la ciprofloxacine se sont montré bien actifs avec respectivement 26,32% et 10,53% de résistance. Ces taux restent inférieure à ceux signalé par l'AARN avec des taux de 44,05 % ; 37,77% respectivement.

Le cotrimoxazole avait un taux de résistance de 36,84%, ce taux reste inférieure à celui de l'AARN 53,34%. 36,84% des souches sont résistantes à la gentamicine, ces résultats sont comparables à ceux de l'AARN (44,66%). On note que 26,32% des souches sont résistantes à la fosfomycine.

7.3. *Proteus mirabilis* :

12 souches de *P.mirabilis* ont été identifiées parmi les 148 souches d'entérobactéries isolées. Les résultats des taux de résistance aux antibiotiques testés sont présentés dans la figure 10.

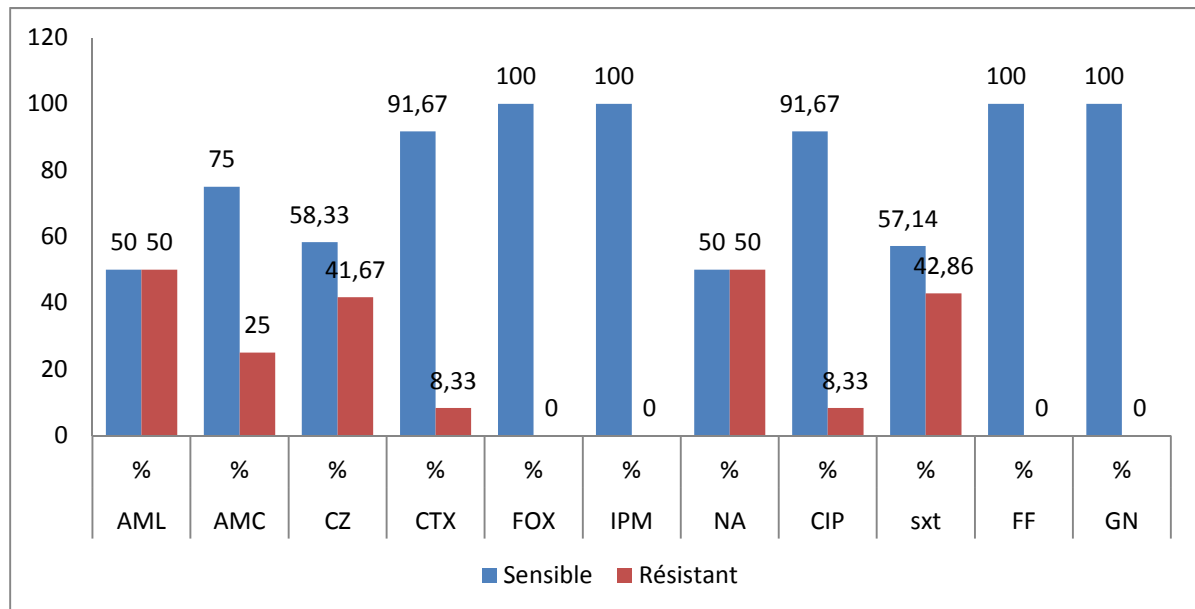


Figure 10: Pourcentage de résistance de *Proteus mirabilis* aux antibiotiques.

Le profil de résistance de *P.mirabilis* montre une sensibilité totale à l'imipénème, céfoxitine, gentamicine et la fosfomycine, une sensibilité moindre pour le céfotaxime, la ciprofloxacine 91,67% et l'amoxicilline + l'acide clavulanique 75%. Elle présente une résistance moyenne à l'amoxicilline, la céfazoline et le cotrimoxazole.

Nos résultats sont loin d'être proches de ceux de l'AARN ou on observe 65,23 %, 29,18%, 39,23%, 10,65% 51,54% et 44,43% respectivement pour l'amoxicilline, amoxicilline+ acide clavulanique, céfazoline, céfotaxime, acide nalidixique et le cortimoxazole. Par contre nos résultats sont inférieurs à ceux de l'AARN en ce qui concerne la céfoxitine 6,79%, ciprofloxacine 15,73%, gentamicine 12,95% et la fosfomycine 7,49%.

Dans une étude faite par **Ben abedellah et al. (2008)** les résistances les plus élevées ont été observées pour l'amoxicilline 71 %, l'association amoxicilline-acide clavulanique 45,5%, la céfalotine 33,8% et le cotrimoxazole 39,6%.

7.4. *Morganella morganii* :

Nous avons identifié 07 souches de *M.morganii*, les résultats de leurs antibiorésistances sont présentés dans la figure ci-dessous.

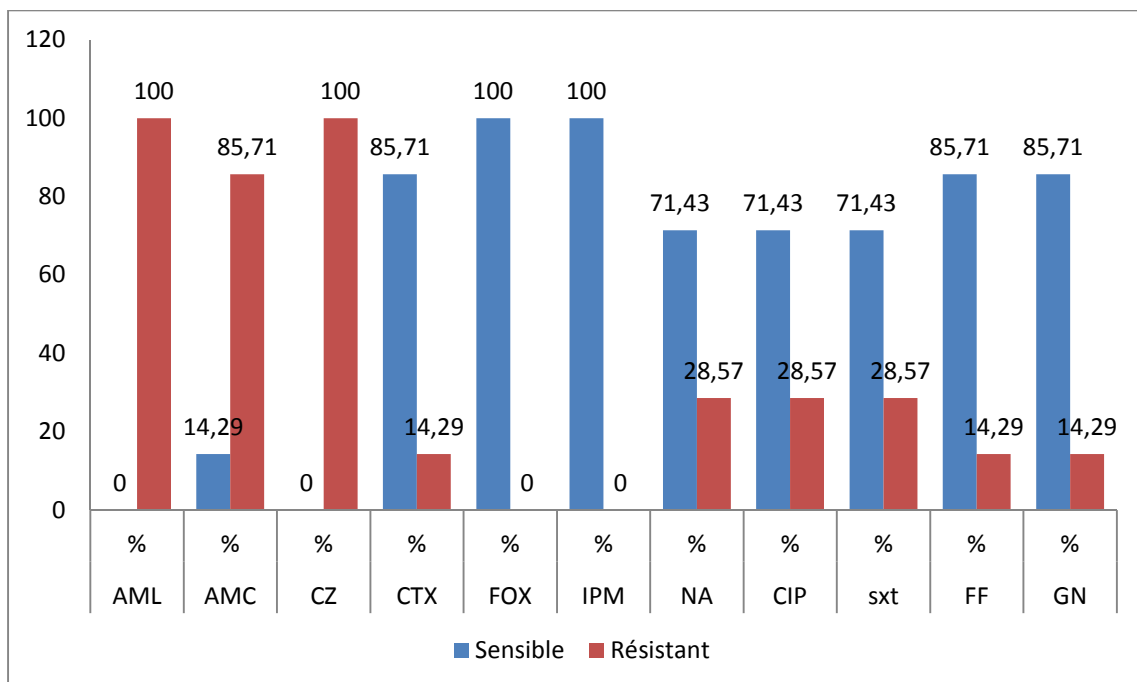


Figure 11: Pourcentage de résistance de *Morganella morganii* aux antibiotiques.

M.morganii présente une résistance naturelle vis-à-vis de l'amoxicilline et la céfazoline (**Lobel et Soussy, 2007**), Elles présentent une résistance de 85,71 % vis à vis de l'amoxicilline+ l'acide clavulanique, les taux de résistance des souches aux céfotaxime, gentamicine et fosfomycine restent faible avec un pourcentage de 14,29%.

L'activité des quinolones et le cotrimoxazole sur cette espèce est remarquable puisqu'elles ont agi sur 71,43% des souches. Toutes les souches étaient sensibles à l'imipenème et au céfoxitine.

Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Minchella et al. (2008)**, les 250 souches de *M. morgani* avaient des taux de résistances de 8 % pour la gentamicine, 20 % pour le cotrimoxazole, 15 % au céfotaxime et 17 % pour la ciprofloxacine.

7.5. *Enterobacter spp* :

La figure 12 présente le taux de résistance des 06 souches d'*Enterobacter* isolées aux antibiotiques testés.

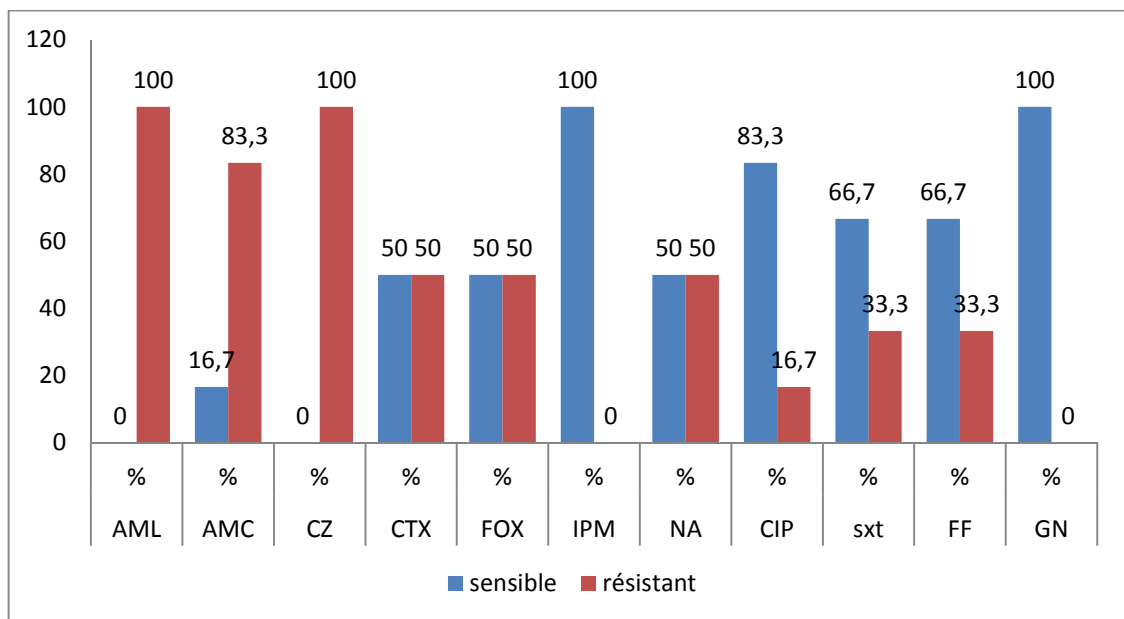


Figure 12 : Pourcentage de résistance des souches d'*Enterobacter spp* aux antibiotiques.

D'après la figure on note que toutes les souches sont résistantes à l'amoxicilline et à la céfazoline. L' amoxicilline+ l'acide clavulanique est faiblement actif sur ces souches avec un taux de résistance de 83,33%. On remarque aussi que le céfotaxime, la céfoxitine et l'acide nalidixique ont inhibés la moitié des souches. La ciprofloxacine, la fosfomycine et le cotrimoxazole ont une bonne activité. La totalité des souches se sont montrées sensibles à l'imipenème et à la gentamicine. .

D'après **Russo et Johnson (2008)**, *L'E. cloacae* et l'*E. aerogenes* sont naturellement résistants à l'amoxicilline, à amoxicilline-clavulanate, à la céfalotine et à la céfoxitine par production d'une bêta-lactamase chromosomique de classe C inductible AmpC.

7.6. *Citrobacter sp* :

Nous avons identifié 06 souches de *Citrobacter sp*, les profils de leurs résistances sont illustrés dans la figure suivante :

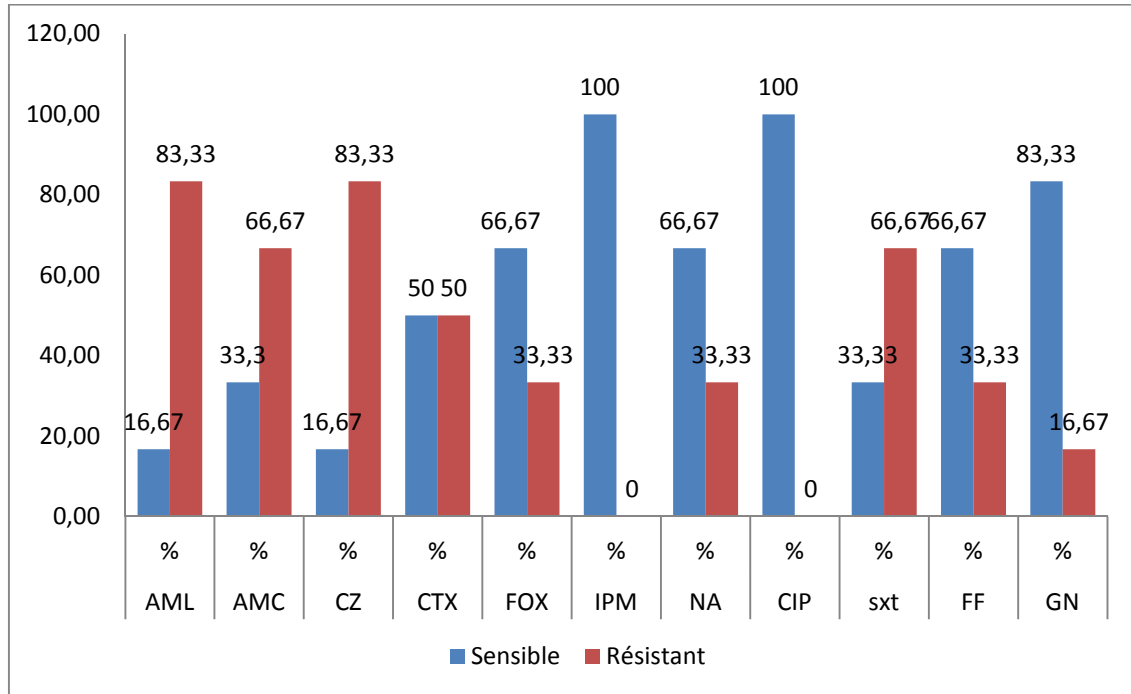


Figure 13 : Pourcentage de résistance des souches de *Citrobacter spp* aux antibiotiques

La figure montre que la majorité des souches sont résistantes à l'amoxicilline et à la céfazoline 83,33%, l'amoxicilline+ l'acide clavulanique et le cotrimoxazole sont peu actifs, le céfotaxime à inhibé la moitié des souches. L'activité de la céfoxitine, l'acide nalidixique et la fosfomycine reste bonne par rapport aux autres antibiotiques, car seulement 33,33% des souches ont résisté. On remarque que la gentamicine à une très bonne activité et que l'imipénème et la ciprofloxacine ont inhibé la totalité des souches isolées.

D'après **Lamnaouer (2002)**, Les souches de *Citrobacter sp*. sont généralement sensibles à la gentamicine, à la tobramycine, à l'amikacine, au chloramphénicol, à la colistine, à la ciprofloxacine et à l'imipénème.

Depuis quelques années, la résistance des *Citrobacter sp*. augmente et notamment la résistance des espèces du complexe *Citrobacter freundii* vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération et des quinolones.

7.7. Autres souches d'entérobactéries :

A) *Serratia spp* :

Seulement deux souches ont été isolées lors de nos examens, et ont présenté une résistance à 100% pour l'amoxicilline et à la céfzoline, et une résistance de 50% au cotrimoxazole, les autres antibiotiques étaient actifs à 100 %

B) *Salmonella spp* :

Une souche de salmonella à était également isolée, et l'antibiogramme effectué a montré que cette souche est résistante à l'amoxicilline et à la fosfomycine, elle a présenté une sensibilité quasi-total aux autres antibiotiques.

8. Entérobactéries sécrétrices de BLSE :

Sur un total de 148 entérobactéries isolées, 16 étaient productrices de BLSE soit une prévalence de 10,81%.La répartition des espèces d'entérobactéries productrices de BLSE est consignée dans le tableau VI.

Tableau VII: Répartition des 16 souches d'entérobactéries productrices de BLSE

| Souches d'entérobactéries | BLSE | |
|-----------------------------|--------|-------|
| | N° | % |
| <i>E. coli</i> | 10/89 | 11,24 |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> | 04/19 | 21,05 |
| <i>Enterobacter spp</i> | 01/06 | 20,00 |
| <i>Morganella morganii</i> | 01/07 | 14,29 |
| Total | 16/148 | 10,81 |

Dans notre cas deux espèces étaient prédominantes, *E. coli* avec 10 souches et *K. pneumoniae* avec 04 souches. Le genre *Enterobacter* était représenté avec 01 souche et l'espèce *morganella morganii* avec 01 seul souche aussi.

Quant aux produits biologiques, la proportion des entérobactéries productrices de BLSE était élevée dans les urines avec 09 souches suivie du pus avec 05 souches et du sang avec 02 souches.

En effet, le taux des BLSE varie d'un pays à l'autre et d'un centre à l'autre. A titre d'exemple, les pays du Sud de l'Europe enregistraient des taux dépassant les 10% ; en revanche, ceux du Nord en enregistraient moins de 5%. (Romli et al., 2011)

Au Maroc, Lahlou et al. (2009) ont retrouvé un taux de 9% sachant que 70% de leurs patients étaient de l'ambulatoire alors que ce taux aurait dû être nettement supérieur.

De notre étude, nous avons constaté que les entérobactéries occupent une masse importante des isolats du laboratoire, ainsi que la majorité des souches isolées avaient comme origine les urines. En effet, selon **Zogheib et Dupont (2005)**, les entérobactéries représentent la majorité des infections à BGN. Elles peuvent tout aussi bien être responsables d'infections communautaires avec des phénotypes de résistance «sauvages» que d'infections nosocomiales avec des profils de multirésistance aux antibiotiques.

Dans l'hôpital de Kolea, le plus grand nombre d'infections est recensé dans les services de pédiatrie et de médecine interne, où un nombre important de diabétiques sont hospitalisés. Chez les externes nous retrouvons beaucoup d'infections urinaires chez les femmes. Cela est dû à des facteurs favorisants spécifiques (urètre court, grossesse...). *E.coli* est de loin le germe le plus fréquemment isolé, suivi de *Klebsiella pneumoniae* et de *proteus mirabilis*. L'ensemble des autres entérobactéries (*Entérobacter spp*, *Morganella morganii*, *P vulgaris*, *Citrobacter spp*, *Serratia spp* et *Salmonella sp*) représente des taux relativement faible.

En ce qui concerne l'étude de la sensibilité des entérobactéries aux bêta-lactamines, on observe des taux de résistances acquises assez élevés à l'hôpital et chez les externes. Ces taux sont comparables à ceux d'autres études cités précédemment. y compris la fréquence des souches productrices de BLSE, qui est en perpétuelle évolution. Cette situation générale, est la conséquence de la pression de sélection due au large usage des bêta- lactamines. De plus, ces résistances acquises du fait de leur déterminisme plasmidique, ont un grand pouvoir de dissémination (**Larabi et al., 2003**)

L'imipénème est la seule bêta-lactamine active pouvant être utilisée comme un traitement alternatif pour les souches d'entérobactéries résistantes aux C3G. Cet antibiotique n'est pas hydrolysable par les deux types de bêta-lactamases (AmpC hyperproduite et BLSE de type *CTX-M*)

Les aminosides gardent une très bonne activité. Les résistances acquises, bien que plasmidiques concernent surtout les entérobactéries productrices de BLSE. La résistance des entérobactéries aux aminosides est due dans la majorité des cas à la modification enzymatique de l'antibiotique par des enzymes : AAC, ANT et APH ou à l'imperméabilité ou excrétion de l'antibiotique (**Lambert, 2006**).

La proportion d'entérobactéries résistantes aux fluoroquinolones 13,12% est plus faible que la proportion d'entérobactéries résistantes à l'acide nalidixique 35,30%. Par ailleurs, la résistance à l'acide nalidixique s'accompagne fréquemment d'une sensibilité diminuée aux

fluoroquinolones. Ce sont des mutants de bas niveau de résistance pouvant facilement évoluer vers une résistance de haut niveau (souches résistantes à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine) sous la pression de sélection exercée par les fluoroquinolones. L'émergence de la résistance des entérobactéries à l'acide nalidixique et aux fluoroquinolones constitue le principal problème lié à leur utilisation. Cette résistance fait intervenir différents mécanismes dont le plus fréquent est la modification des cibles, ADN gyrase et/ou topoisomérase IV par mutation ponctuelle d'un acide aminé. **(Benabedellah et al., 2008)**

La fosfomycine garde une excellente activité sur la plupart des entérobactéries, ces résultats concordent avec ceux d'une analyse rétrospective de 2000 à 2005 faite par **Honderlick et al.(2006)**, de la sensibilité aux antibiotiques de 19 618 bactéries isolées d'ECBU, ont permis de montrer que la fosfomycine a, sur ces six années, une sensibilité supérieure à 80 %.

On a noté pour le cotrimoxazole des taux de résistance variant de (5,56 % à 66,67%), Cette molécule est à éviter en première intention par les praticiens car le taux de résistance est assez élevé.

Références

- **Astagneau P., Ancelle T., 2011** : surveillance épidémiologique : principes, méthodes et applications en santé publique, édition Lavoisier ,360 p, p.152.
- **Allain P., 2008** : Bêta-lactamines, pénicillines et céphalosporines. Les médicaments. 3ème édition.
- **Amhis W., 2009** : la tribu des Proteae, cours CES microbiologie 1^{ière} année résidanat en microbiologie. CHU d'Hussein-Dey hôpital de Parnet.
- **Anglaret X., Mortier E., 2002** : maladies infectieuses 3èm édition, édition : ESTEM, édition : MED-LINE, p.111.
- **Avril (J-L), Dabernat H., Denis F., Monteil H : 1992.** Bactériologie clinique, édition : Ellipses, paris, p.149- 151.
- **Baudray C., Brezellec H., 2006** : Cahier du préparateur en pharmacie : microbiologie-immunologie 2ém édition, édition Wolters Klower France, 123p
- **Bégué P., Astruc J., 1999** : **Pathologies** infectieuses de l'enfant, édition : Masson, paris, 597 p, p. 45
- **Ben Haj Khalifa A et Khedher M., 2010** : Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire Tahar Sfar de Mahadia, de la Revue Tunisienne d'Infectiologie, Avril 2010 - Vol.4 - N°2 - p. 57 - 61.
- **Ben abdellah H., Sahnoun O., Ben romdane F., Loussaif C., Nooman S., Bouzouaia N., Chakroun M., Mastouri M, 2008:** profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de Monastir. revue tunisienne d'infectiologie, avril 2008, vol 2, N°2 ,5-8.
- **Bush K., 1999:** β -lactamases of increasing clinical importance. Curr pharm. 5:839-45.
- **Bush K., Jacoby G A., and Medeiros A.A., 1995:** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob agents chemother 1995; 39:1211-33
- **Bonnet R., 2006:** β -lactamines et entérobactéries. In. Antibiogramme. Ed. ESKA, Paris, p.141-162.
- **Caron F., 2002:** Physiopathology of nosocomial urinary tract infections: *Medicine et maladies infectieuses*, 33: 438–446. 9

- **Coker C., Poore, C. A., Li, X., & Mobley, H. L.2000:** Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 2(12), 1497-1505
- **Courvalin, P., Leclercq R et Bingen E (ed.), 2006 :** AntibioGramme (2^{ème} édition). ESKA, Paris. 693 p.
- **Denis F., Ploy M-C., Martin C.,Bingen E ; Quentin R. 2007.** Bactériologie médicale techniques usuelles, édition : Elsevier Masson, p. 290-319.
- **Denis F., Ploy M-C., Martin C.,Bingen E ; Quentin R. 2011.** Bactériologie médicale techniques usuelles 2^{ème} édition revue et augmentée, édition: Elsevier Masson, p.23.
- **Djennane F., Mohammedi D., Tiouit D., Touati D., Rahal K., 2009 :** Institut Pasteur d'Algérie : techniques microbiologiques (examen cytobactériologique des urines) « E.C.B.U », édition 2009
- **Emmanuel E., 2004 :** Evaluation des risques sanitaires et éco toxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Thèse de doctorat.
- **Fauchère J-l., Avril J-L., 2002 :** Bactériologie général et médical, édition : Ellipses marketing, 365 p.
- **Garrity G-M., Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J., 2005:** Taxonomic outline of the prokaryotes bergey's manual of systematic bacteriology, second edition, volume 2, 2005. P 587.
- **Gharout A., Touati A., Madoux J., Brasme L., De champs C et Benallaoua S., 2008 :** Étude de la résistance des souches *Klebsiella Pneumoniae* aux céphalosporines de troisième génération isolées dans la région de Bejaia (2007-2008).
- **Goubau P et Van Gompel A., 2000 :** Repères en microbiologie, édition Louvain Garant.393 p
- **Grandadam M et Guiraud J-P., 2004 :** Microbiologie : cours et questions de révisions, édition : Paris Dunod .
- **Grappin M., Chavanet P., Portier H., 2007 :** Le manuel du généraliste 2^{ème} édition (de l'antibiotique à l'antibiothérapie), édition Elsevier Masson SAS p. 77
- **Grosjean J ; Archambaud M ; Clavé D ; Pasquier C.2009 :** Bactériologie et virologie pratique, édition de boeck université s,a p129.
- **Guessennd N ., Kacou-n'douba A., Gbonov V., Yapi D., Ekaza E., Dosso M., Courvalin P.2008 :** Prévalence et profil de résistance des entérobactéries

productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) à Abidjan Cote d'ivoire de 2005 à 2006. Edition : EDUCI, 2008.

- **Hincky-Vitrat V., 2008 :** Les céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} générations. Service de Maladies infectieuses et Tropicales., CHU Grenoble. P. 14.
- **Honderlick P., Cahen P., Gravisse J., Vignon D., 2006 :** Quelle sensibilité aux antibiotiques pour les bactéries responsables d'infections urinaires ? Que penser de fosfomycine et nitrofuranes ?. *Pathol Biol* 2006 ; 54 : 462-6.
- **Joly B., Reynaud A., 2003 :** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic, édition : Lavoisier, 356 p, p.3
- **Labescat J., 2008 :** Guide des examens complémentaires, 2^{ème} édition. Edition : Lamarre, une marque Wolters Klower.
- **Lahlou A., Chegri I., L'Kassmi H., 2009 :** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. *Antibiotiques* 2009 ; 11 : 90-96.
- **Lamnaouar D., 2000 :** Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT. Programme de l'UICN en Afrique du Nord : Phase III (octobre 2002).
- **Larabi K., Masmoudi A., Fendri C., 2003 :** Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas. *Med Mal Infect* 2003 ; 33 : 348-52.
- **Lavigne JP., 2007 :** Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. Faculté de Médecine Montpellier, Nîmes. 2007. 5p.
- **Le Minor L., Veron M., 1990 :** Bactériologie médicale 2^{ème} édition, édition : Flammarion. P.271-729
- **Lecomte F., 1999 :** Les infections urinaires de la femme, édition : John Libbey Eurotext.
- **Lobel B et Soussy C-J., 2007 :** les infections urinaires, édition : Springer, p.21
- **MacDonald T., Frankel T., Dougan G., Goncalves, N. S., & Simmons C. 2003:** Host defences to *Citrobacter rodentium*. *International Journal of Medical Microbiology*, 293(1), p. 87-93.
- **Mathieu (M-J) ., Fonteneau (J-M) ., 2008 :** Le manuel prophyre du préparateur en pharmacie, édition : : Wolters Klower France , 1409 p
- **Minchella A., Molinari L., Defez Fougeron C., Lavigne JP., Sotto A., Bouziges N., 2008 :** Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Serratia marcescens*,

Providencia stuartii et *Morganella morganii* au CHU de Nîmes : 2002-2006. In P. Jarno, et al. / *Médecine et maladies infectieuses* 38 (2008) S148–S149.

- **Moulin M., Coquerel A., 2002** : Pharmacologie. Ed Masson.P : 1165.
- **Mouton Y., Deboscker Y., Dubreuil L., Bingen E., 2000** : Antibiotiques antiviraux anti infectieux, édition John Libbey Eurotext . 285 p
- **Nauciel C., Vildé (J-L) ., 2005** : bactériologie médical, édition : Masson, paris. P.49-58
- **Nauciel C., 2001** : Bactériologie médicale : connaissance et pratique, édition : Masson 275p.
- **Odievre M., 1999** : pédiatrie 1 édition: Doin, 238 p, p.117.
- **OMS., 2003** : Fiches modèles OMS d'information à l'usage des prescripteurs : médicaments utilisés dans les infections bactériennes, édition : organisation mondial de la santé, Genève, 2003.
- **Pebret F., 2003** : Maladies infectieuses (toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales), édition: heures de France. 589 p, p.58
- **Perrin P., 2000** : CD-ROM Urologie. Université Claude Bernaed. Faculté RTH Laennec.
- **Perronne C .,1999** : Maladies infectieuses, édition :DOIN (groupe liaisons SA),p. 63
- **Philippon A., 2008** : Résistance bactérienne : définition, mécanismes, évolution. Edition : Elsevier Masson SAS.
- **Rahal K., Missoum M.F.K., Benslimani A., Ammari H.,Aboun A.,2012** : Le Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (AARN) 13èm rapport d'évaluation (janvier à décembre 2011).Edition & Publication – ANDS 2012,p66- 78.
- **Rahal K., Missoum M.F.K ., Benslimani A., Ammari H., Tali- Maamar H., Kechih-Bounar S.,2011** : Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 6èm éditions 2011.p25-39-159.
- **Romli A ., Derfoufi O., Chbouki O., Hajjam Z., Zouhdi M.,2010** : Les entérobactéries BLSE des infections urinaires : épidémiologie et résistance. *Service : Laboratoire de microbiologie; hôpital Ibn Sina. Université Mohammed V. CHU de Rabat - Maroc.* Edition : Maroc Médical, tome 33 n°1, mars 2011.
- **Référentiel en microbiologie médicale (REMIC).** 2004. Par le groupe Rémic de la SFM.2M2 .Edition et communication.

- **Russo T et Johnson J., 2008:** Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli. In A. S. Fauci, & A. Fauci (Eds.), (17th ed.). New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division. Retrieved from online.statref.com/document.aspx
- **Ryan K. J., 2004:** Enterobacteriaceae. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), *Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious diseases* (4th ed., pp. 343-371). USA : McGraw-Hill
- **Schaechter M., Medoff G., Eisenstein B.I., 1999 :** Microbiologie et pathologie infectieuse, édition de De Boeck Supérieur. p 182
- **Sherwood L-M et Willey J-M , Woolverton C-J.,2010:** Microbiologie, édition de boeck université, 1216 P.
- **Singleton P et Dusart J., 1999 :** Bactériologie : 4^èm éditions, édition: Dunod. 415 p
- **Soussy C.-J., 2007 :** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. P: 21-46.
- **Stora D., 2010 :** Cahier du préparateur en pharmacie : B.P : classe pharmacologique 4 èm édition, ED : Wolters Klower. P43- 62.
- **Tulkens P., Spinewine A., 2002 :** Pharmacologie spéciale-Les aminoglycosides, Pharmacologie et pharmacothérapie des anti-infectieux. Université catholique de Louvain.
- **Vaubourdolle M., 2007 :** Infectiologie (tom 3), collection dirigé par Michel Vaubourdolle, édition : Wolters Kluwer SA, p745-852
- **Vora S., Auckenthaler R., 2010 :** Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique ?. Revue Médicale Suisse. N°220.
- **Weber P., Dib C., Durand C., et Moniot-Ville N. 2004 :** Evaluation de la sensibilité à la lévofloxacine des souches isolées d'infection basses communautaires. *Pathologie Biologie*.**53**: 125-128.
- **Yala D., Merad AS., Mohamedi D., Ouar Korich M N., 2001 n°91:** Classification et modes d'action des antibiotiques.
- **Yernault J-CL ., Demedts M., 1997:** Infections respiratoires pour le spécialiste, édition : Garants éditeurs S.A et les auteurs. 456p
- **Zahar (J-R), Bille E., Schnell D., Lanternier F. , Mechai F., Masse V., Nassif X., Lortholary O.,2009 :** Diffusion communautaire des entérobactéries sécrétrices de b-lactamase à spectre élargi (EBLSE), édition MEDECINE/SCIENCES 2009 ; 25 : 939-44.

- **Zahar JR., Moumile K., 2002** : Escherichia coli, définition, épidémiologie des résistances. Service de microbiologie hygiène, CHU Necker Enfants malades.6p.
- **Zogheib E et Dupont H., 2005** : Entérobactéries multirésistantes, édition : 2005 Elsevier SAS.

Annexe I : matériel non biologique

Tableau VIII : Matériels non biologique.

| Appareillages | verreries | Réactifs, colorants et solutions | |
|---|--|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Bec bunsen. -Microscope optique. - Etuve réglée à 37°C. - Réfrigérateur. - Portoirs (plastique, inox). - Bandelette. - Seringues stériles. - Bain- Marie. - Centrifugeuse - Pince métallique ou en plastique. - Poire. - Ecouvillon. - Pied à coulisse. - Autoclave. - Galerie biochimique. - Cloche à bougie pour anaérobiose. - Gants de chirurgie. - Compresse. -Solution antiseptique pour désinfection (alcool, eau de javel et nettoyant (Anios). - Densitomètre. -Agitateur. | <ul style="list-style-type: none"> - Tubes à vis stériles. - Tubes à hémolyses. - Pipettes pasteur stériles. - Lame et lamelle. -Boites de pétri stériles. | <ul style="list-style-type: none"> - Eau physiologique stérile à 9%. - Eau distillé stérile. - Violet de gentiane. - Bleu de méthylène. - Lugol. - Alcool à 95%. - Fushine. - L'huile de vaseline stérile. - Disques imprégnés de l'orthonitrophényl B-galactopyranoside (ONPG). - Réactif de Kovacs. - Réactif de Voges-Proskauer I et II (VP I et II). - Réactif de tryptophane désaminase (TDA). - Disques d'antibiotiques. - Sang humain. | |
| | Milieux solides et semi-solides | | |
| | <ul style="list-style-type: none"> -Gélose nutritive (GN) -Gélose Mueller Hinton (MH) - triple sugar iron. -milieu citrate de simmons -Gélose milieu Hektoéne. -Gélose au sang frais (GSF). -Gélose au sang cuit (GSC). | | |
| | Milieux liquides | | |
| | <ul style="list-style-type: none"> -Bouillon glucosé tamponnée. -Bouillon Clark et Lubs. -Milieu urée indole. | | |



Figure 14: Réaction RM

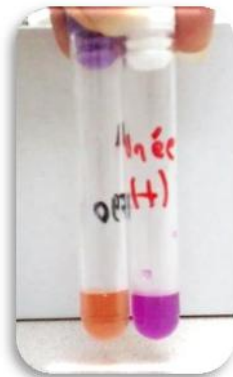


Figure 15: Test de l'uréase



Figure 16: Test d'ONPG



Figure 17: Test de Citrate



Figure 18 : Milieu TSI positif



Figure 19 : Réaction VP



Témoin (+) ODC, LDC, ADH(+)

ODC, LDC, ADH(-)

Figure 20 : Recherche des décarboxylases



Figure 21 : Galerie classique d'identification des entérobactéries



Figure 22 : Galerie Api 20 E

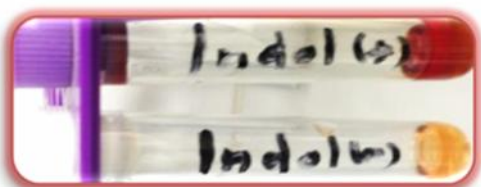


Figure23 : Production d'indole (originale)



Figure 24 : Test de l'oxydase.



Figure 25: Etuve de séchage



Figure 26: Culture pure d'*E. coli*

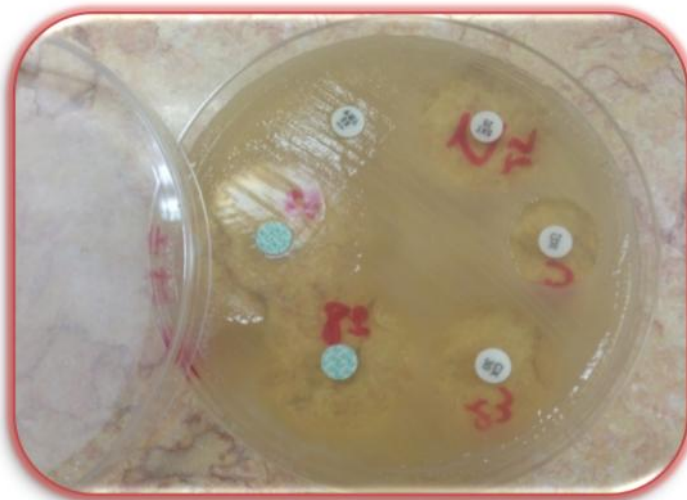


Figure 27 : Antibiogramme d'une souche d'*E. coli*



Figure 28: Microscope optique



Béta-lactamase (+)



Béta-lactamase (-)

Figure 29 : Test de synergie (originale)

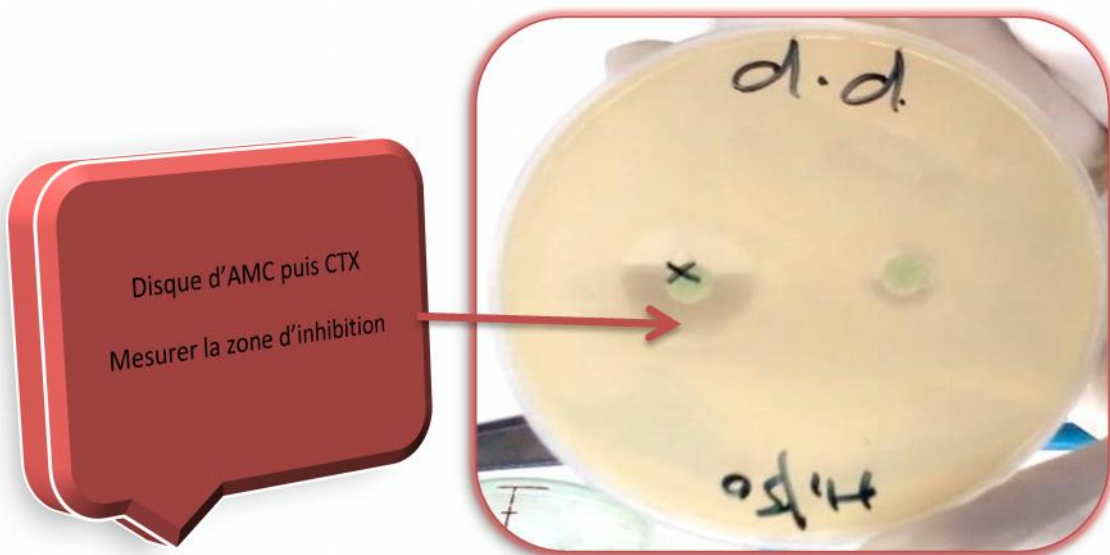


Figure 30: *E. coli* productrice de BLSE (test du double disque positif). (Originale)

Annexe II :

Composition des milieux de cultures utilisées : (formules en g/l)

Gélose nutritive : (GN)

| | |
|-------------------------|-----|
| Peptone..... | 10 |
| Extrait de viande..... | 03 |
| Extrait de levure..... | 03 |
| Chlorure de sodium..... | 05 |
| Agar..... | 10 |
| pH..... | 7.5 |

Milieu Mueller Hinton (MH) pour l'antibiogramme :

| | |
|-----------------------------|------|
| Extrait de viande..... | 03 |
| Hydrolysate de caséine..... | 17,5 |
| Amidon..... | 1,5 |
| Agar..... | 17,5 |
| pH..... | 7.5 |

Gélose Hektoène (HK) :

| | |
|--------------------------------|-------|
| Protéase peptone..... | 12 |
| Extrait de levure..... | 03 |
| Chlorure de sodium..... | 05 |
| Thiosulfate de sodium..... | 05 |
| Sels biliaires..... | 09 |
| Citrate de fer ammoniacal..... | 1.5 |
| Salicine..... | 02 |
| Lactose..... | 12 |
| Saccharose..... | 12 |
| Fushine acide..... | 0.1 |
| Bleu de bromothymol..... | 0.065 |
| Agar..... | 14 |

Gélose au sang :

| | |
|-------------------------|-----|
| Extrait de viande | 10 |
| Peptone de caséine..... | 05 |
| Extrait de levure..... | 05 |
| Chlorure de sodium..... | 03 |
| Agar..... | 18 |
| pH..... | 7,5 |

Gélose Triple Sugar Iron (TS1) formule en g/l :

| | |
|----------------------------|------|
| Extrait de viande..... | 03 |
| Extrait de levure..... | 03 |
| Peptone..... | 20 |
| Chlorure de sodium..... | 05 |
| Citrate ferrique..... | 0,3 |
| Thiosulfate de sodium..... | 0,3 |
| Rouge de phénol..... | 0.05 |
| Agar..... | 18 |

Milieu citrate de Simmons :

| | |
|-----------------------------------|------|
| Ammonium dihydrogluphosphate..... | 01 |
| Phosphate dipotassique..... | 01 |
| Chlorure de sodium..... | 05 |
| Citrate de sodium..... | 02 |
| Sulfate de magnésium..... | 0,2 |
| Bleu de bromothymol..... | 0,08 |
| Agar..... | 18 |

Bouillon nutritif :

| | |
|-------------------------|-----|
| Peptone..... | 10 |
| Extrait de viande..... | 05 |
| Chlorure de sodium..... | 05 |
| pH..... | 7,2 |

Milieu urée indole :

| | |
|-------------------------------|----|
| L-tryptophane..... | 03 |
| Phosphate dipotassique..... | 01 |
| Phosphate monopotassique..... | 01 |

| | |
|--------------------------------------|-------|
| Chlorure de sodium..... | 05 |
| Urée..... | 20 |
| Rouge de phénol..... | 2,5 |
| Milieu Clark et Lubs : | |
| Tryptone..... | 10 |
| Peptone..... | 05 |
| Phosphate dipotassique..... | 05 |
| Glucose..... | 01 |
| Bouillon nitrate : | |
| Peptone de viande..... | 10 |
| Extrait de viande..... | 05 |
| Chlorure de sodium..... | 05 |
| Nitrate de potassium..... | 01 |
| Composition des réactifs : | |
| Violet de gentiane phénique : | |
| Violet de gentiane..... | 01g |
| Alcool 90°..... | 10ml |
| Phénol cristallisé..... | 02g |
| Eau distillée..... | 100ml |
| Solution lugol : | |
| Iode..... | 01 g |
| Iodure de potassium..... | 02g |
| Bicarbonate de soude à 5 %..... | 60ml |
| Eau distillée..... | 300ml |
| Fushine phéniquée de Ziehl : | |
| Fushine basique..... | 01g |
| Alcool 96°..... | 10ml |
| Phénol..... | 05g |
| Eau distillée..... | 100ml |
| Réactif de Voges Proskauer : | |
| VPI : | |
| Hydro chlorure de potassium..... | 40g |
| Eau distillée..... | 100ml |

VPII :

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Alpha naptol..... | 06g |
| Ethanol..... | 100ml |
| Rouge de phénol solution à 1 %..... | 04ml |
| Eau de distillée..... | 01l |

Réactif de Kovacs :

| | |
|-----------------------------------|-------|
| P-diméthylamino-benzaldéhyde..... | 50g |
| Alcool analytique butylique..... | 750ml |
| HCL pur..... | 250ml |

Réactif TDA :

| | |
|-------------------------|-------|
| Perchlorure de fer..... | 3,4g |
| Eau distillée..... | 100ml |

Réactif au bleu de méthylène pour la coloration simple :

| | |
|---------------------------------|-------|
| Bleu de méthylène..... | 1,5ml |
| Acide phénique..... | 1ml |
| Alcool absolu (alcool 95°)..... | 10ml |
| Eau distillée..... | 100ml |



Figure 31: Différents milieux de culture



Figure 32 : Différents réactifs

Annexe III

Tableau VIII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries. (Rahal et al., 2011)

| Antibiotiques | Résistant | Intermédiaire | Sensible |
|--------------------------------|-----------|---------------|-----------|
| Amoxicilline | ≤ 13 | 14 – 16 | ≥ 17 |
| Amoxicilline+ Ac clavulanique | ≤ 13 | 14 – 17 | ≥ 18 |
| céfazoline | ≤ 19 | 20 – 22 | ≥ 23 |
| céfotaxime | ≤ 22 | 23 – 25 | ≥ 26 |
| céfoxitine | ≤ 14 | 15 – 17 | ≥ 18 |
| imipénème | ≤ 19 | 20 - 22 | ≥ 23 |
| gentamicine | ≤ 12 | 13 – 14 | ≥ 15 |
| Acide nalidixique | ≤ 14 | 14 – 18 | ≥ 19 |
| Ciprofloxacine | ≤ 18 | 16 – 20 | ≥ 21 |
| Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole | ≤ 10 | 11 – 15 | ≥ 16 |
| Fosfomycine | ≤ 12 | 13 – 15 | ≥ 16 |

Tableau X : Tableau de lecture de la galerie Api 20 E.

| tests | Substrat | Caractère recherché | résultats | |
|----------------------------------|--------------------------------|--|--|---------------------------|
| | | | négatif | positif |
| ONPG | Ortho-nitro-phenyl-galactoside | Beta-galactosidase | incolore | Jaune (1) |
| ADH | Arginine | Arginine dihydrolase | Jaune | Rouge orangé |
| LDC | lysine | Lysine décarboxylase | jaune | orangé |
| ODC | Ornithine | Ornithine décarboxylase | Jaune | Rouge/orangé |
| CIT | Citrate de sodium | Utilisation du citrate | Vert pâle/jaune | Bleu-vert/vert |
| H2S | Thiosulfate de sodium | Production d'H2S | Incolore/grisâtre | Dépôt noir/ fin liseré |
| UREE | urée | Uréase | Jaune | rouge/orangé |
| TDA | Tryptophane | Tryptophane désaminase | jaune | Marron foncé |
| IND | Tryptophane | Production d'indole | jaune | Anneau rouge |
| GEL | Gélatine de Kohn | Gélatinase | Non diffusion | Diffusion du pigment noir |
| GLU | glucose | Fermentation / oxydation | Bleu / bleu vert | Jaune |
| Autres sucres | Manitole,sorbitol... | Fermentation / oxydation | Bleu / bleu | Jaune |
| VP | Pyruvate de sodium | Production d'acétoïne | incolore | Rosé-rouge |
| Ox | Sur papier filtre | Cytochrome-oxydase | incolore | Anneau violet |
| MOB | Microscope | Mobilité | Immobile | Mobile |
| MAC | Milieu de MacConkey | Culture sur | Absence | Présence |
| OF | Glucose | Fermentation : sous huile Oxydation : à l'air | Vert Vert | Jaune Jaune |
| NO ₃ -NO ₂ | Tube GLU | Production de NO ₂ Réduction au stade N ₂ | NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn | |
| | | | Jaune | Rouge |
| | | | Zn | |
| | | | Rouge | Jaune |
| CAT | | Possession d'une catalase | H₂O₂ / 1-2 mn Pas de bulles bulles | |

Tableau XI : Répartition des souches selon les services

| Espèces bactériennes | Externe | Médecine Interne | Maladies infectieuse | Pédiatrie | Néphrologie | Chirurgie | total |
|---------------------------------|---------|------------------|----------------------|-----------|-------------|-----------|-------|
| <i>Escherichia coli</i> | 72 | 3 | 0 | 10 | 2 | 2 | 89 |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> | 6 | 2 | 2 | 4 | 3 | 2 | 19 |
| <i>Enterobacter spp</i> | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 1 | 5 |
| <i>Enterobacter agglomerans</i> | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Citrobacter spp</i> | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| <i>Citrobacter diversus</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 3 | 4 | 0 | 1 | 1 | 3 | 12 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Morganella morganii</i> | 1 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 7 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 4 |
| <i>Serratia sp</i> | 0 | 0 | 1 | | 1 | 0 | 2 |
| <i>Salmonella spp</i> | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Total | 85 | 17 | 9 | 19 | 7 | 11 | 148 |
| Pourcentage | 57,43 | 11,49 | 6,08 | 12,84 | 4,73 | 7,43 | 100 |