

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/FSNVST/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

DEROUICHE Nissa & BELLILA Amira

Thème

**Etude de la résistance des entérobactéries isolées de service
pédiatrie de l'hôpital Mohamed Boudiaf-Bouira.**

Soutenu le : 02/07/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Dr BACHIRI Taous</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Dr MEDBOUA Chafia</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Dr DJENADI Katia</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Nous remercions tout d'abord « Allah » de nous avoir donné le courage d'entamer et de finir ce travail dans les bonnes conditions.

Nous remercions Dr DJENADI KATIA pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nos remerciements vont également à l'égard de Dr BACHIRI TAOUS pour avoir accepté de présider ce jury.

Notre promotrice Dr MEDBOUA CHAFIA pour son encadrement, sa disponibilité, sa rigueur scientifique et son sens d'écoute et d'échange. Merci pour votre indéfectible disponibilité, votre rigueur scientifique et la confiance que vous avez accordées au cours de l'élaboration de cette mémoire. Merci pour vos conseils éclairés.

Nous remercions énormément Dr SELMI et Mr BOUTEMEUR avec tout le personnel de laboratoire d'analyses médicales et de service pédiatrie de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Bouira.

Nous adressons aussi notre plus vive reconnaissance à tous nos enseignants du département de biologie pour la formation qu'ils nous ont donnée pendant nos études universitaires.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce travail à du plus gentil de papa, les amies, mon frère **ITHRI** qui m'a toujours encouragé et qui m'a aidé à surmonter les difficultés de la vie, voilà papa **MAKHLLOUF** reçois ce travail comme le fruit de ta patience et la récompense de tous les moments que tu as supporté à mon égard.

À celle qui m'a mise au monde ma douce et ma chère mère qui m'a donné le goût de vivre et le goût d'apprendre voilà maman **FATIIMA**, et reçois ce travail en témoignage de tous les espoirs que tu avais placés en moi.

À ma tante **BEKHI** qui ne m'a jamais cessé de prier pour moi, qui a toujours été à mes côtés et ma tendue la main dans les moments les plus difficiles. Acceptez donc ici l'hommage de ma gratitude et mon grand merci.

À ma chère sœur et binôme **AMIRA** et à mes chères amies **MANEL, DINA, HANINE** et aussi à mon chef au travail **MOHAMED** qui ont été à mes côtés, je vous souhaite une merveilleuse vie.

À ma sœur et chère amie d'enfance **THIZIRI**.

À mes chères cousins et cousines **HASSINA, DIHIA, SAMIHA, FADOUA, CHAHINEZ, LAMIA, NASSIM, MASSINISSA, ALI, AKLI, LINA** et la petite **ALICE**.

Je dédie aussi ce travail à toute la famille **DEROUICHE** et la famille **IHDENE**.

DEROUICHE NISSA.

Dédicaces

Je dédie ce travail à du plus gentil de papa, les amies, mes frères **ABDOU** et **ISLEM**, mes sœurs **MACHA** et **IMANE** qui m'a toujours encouragé et qui m'a aidé à surmonter les difficultés de la vie, voilà papa **RABEH** reçois ce travail comme le fruit de ta patience et la récompense de tous les moments que tu as supporté à mon égard.

À celle qui m'a mise au monde ma douce et ma chère mère qui m'a donné le goût de vivre et le goût d'apprendre voilà maman **FATEMA**, et reçois ce travail en témoignage de tous les espoirs que tu avais placés en moi.

À mes chers collègues du travail : **BENTAHER**, **CHAOUCHE**, **MANNI**, **ZAIDI**, **Mr KAOUANE** et **Dr SELMI** qui n'ont jamais cessé de prier pour moi et qui ont toujours été à mes côtés et ma tendue la main dans les moments les plus difficiles. Acceptez donc ici l'hommage de ma gratitude et mon grand merci

À mes oncles **FARID** et **SLIMEN** qu'ont été à mes côtés, je vous souhaite une merveilleuse vie.

À ma chère sœur et binôme **NISSA** et à mes chères amies, **HANNA**, **ASMA**, **MAISSA**, **ZAKARIA**, **RABEH**, **FARIZA**, **SABAH**, **RANIA**, **YOUSEF**, qu'ont été à mes côtés, je vous souhaite une merveilleuse vie.

Je dédie aussi ce travail à toute la famille **BELLILA** et la famille **ZEMOUCHE**.

BELLILA AMIRA.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie synthèse bibliographique

Chapitre I : Les entérobactéries

1. Habitat.....	3
2. Classification.....	3
3. Caractéristiques bactériologiques	5
3.1. Les caractères morphologiques... ..	5
3.2. Les caractères cultureux... ..	6
3.3. Les caractères biochimiques... ..	6
3.4. Les caractères antigéniques... ..	8
4. Facteurs de virulence et pouvoir pathogène	8

Chapitre II : La résistance aux antibiotiques

1. La définition des antibiotiques.....	10
2. Les cibles bactériennes des antibiotiques	10
3. Les antibiotiques actifs sur les entérobactéries	11
4. La résistance bactérienne chez les entérobactéries	11
4.1. La résistance naturelle chez les entérobactéries	11
5. Le mécanisme de résistance acquise chez les entérobactéries	12
5.1. La résistance non enzymatique	12
5.2. La résistance enzymatique	13
5.2.1. La production de β -lactamases	13

5.2.2. L'aminosidase	14
----------------------------	----

Partie pratique

Chapitre IV : Matériels et méthodes

1. Le cadre d'étude	15
2. Le prélèvement et l'enrichissement	15
3. L'isolement et la purification	17
4. L'identification	17
4.1. L'étude macroscopique	17
4.2. L'identification biochimique.....	17
5. L'étude de la sensibilité aux différentes familles d'antibiotiques	18
5.1. Le principe	18
5.2. La technique.....	18
5.3. Les résultats à obtenir.....	18
5.4. Le choix des antibiotiques.....	18

Chapitre V : Résultats et discussion

1. Les souches bactériennes.....	20
2. L'identification	20
2.1. Les caractères cultureux (Examen macroscopique des isolats).....	20
2.2. L'identification biochimique des isolats.....	22
3. La répartition des espèces des entérobactéries isolées	23
3.1. La distribution des souches isolées par chambres.....	23
3.2. La distribution des souches isolées par sites de prélèvement.....	24
4. Le profil de résistance des entérobactéries isolées aux antibiotiques.....	25
4.1. Le profil de résistance aux antibiotiques de quelques espèces.....	26
4.1.1. Le profil de résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques.....	26
4.1.2. Le profil de résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques	27

4.1.3. Le profil de résistance des souches <i>d'Enterobacter aerogenes</i> aux antibiotiques	28
Discussion	30
Conclusion	33
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

BLSE : β -lactames à spectre étendu

CTX-M: Cefotaximase, first isolated at Munich

KPC: Klebsiella pneumoniae carbapénémases

OXA: Oxacillinase

MH : Mueller Hinton

API 20E : Appareillage et Procédé d'Identification (20 testes)

API 10S : Appareillage et Procédé d'Identification (10 testes)

ECA : Enterobacterial Common Antigen

LPS : Lipopolysacchadides

BPS : bactéries pathogènes spécifiques

BPO : Les bactéries pathogènes opportunistes

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

PLP : Protéines liant la pénicilline

SHV : Sulfhydryl variable

MBL : métallo-béta lactamase

APH : aminoglycosides phosphotransférases

AAC : les aminoglycosides acétylases

ANT : les aminoglycosides adényltransférases

CLIN : Comité de lutte contre les infections nosocomiales

ONPG : L'orthonitrophényl- β -galactoside

GLU : glucose

ARA : arabinose

LDC : lysine Décarboxylase

H₂S : Sodium

URE : Urée

CIT : Trisodium citrate

TDA : Tryptophane Désaminase

IND : indole

OX : Cytochrome-Oxydase

CA-SFM : la Société Française de Microbiologie

EMB : Eosine Méthylène Blue

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure N°01	Structure et aspect microscopique des <i>Enterobacteriaceae</i>	05
Figure N°02	Mécanismes d'action des antibiotiques	10
Figure N°03	Répartition des espèces des entérobactéries isolées à partir de différentes surfaces du service pédiatrie	23
Figure N°04	Distribution des entérobactéries isolées à partir de 3 types de chambres (d'hospitalisation, des couveuses et de plaque chauffante)	24
Figure N°05	Répartition des souches isolées par sites de prélèvement	25
Figure N°06	Profil de résistance des 20 souches d'entérobactéries vis-à-visaux antibiotiques testés.	26
Figure N°07	Profil de résistance des isolats d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques	27
Figure N°08	Profil de résistance aux antibiotiques des <i>Klebsiella pneumoniae</i> Isolés	28
Figure N°09	Profil de résistance des isolats d' <i>Enterobacter aerogenes</i> aux antibiotiques	29
Figure N°10	Résultat de l'antibiogramme de la souche <i>E aerogenes</i> (16)	29

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau N°I	Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries	03
Tableau N°II	Classification des entérobactéries les plus rencontrées en pathologie humaine	04
Tableau N°III	Les caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés	07
Tableau N°IV	Les antibiotiques actifs sur les entérobactéries	11
Tableau N°V	Prélèvements réalisés au niveau du service pédiatrie	16
Tableau N°VI	Liste des antibiotiques testés	19
Tableau N°VII	Aspect microscopique de différentes bactéries isolées des prélèvements de service de pédiatrie de l'hôpital de Bouira Mohamed Boudiaf	21
Tableau N°VIII	Profil numérique de 38 souches d'entérobactéries isolées à partir de service pédiatrie identifier par Api 10s.	22

Introduction

Introduction

L'un des problèmes majeurs de santé publique est la résistance aux antibiotiques, en particulier dans les pays où l'utilisation des antibiotiques est souvent incontrôlée. Or, l'évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques, résultat d'interactions complexes entre les bactéries et leur environnement, est intrinsèquement liée à la surconsommation d'antibiotiques et est plus importante en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire ou l'alimentation animale. Pour gérer la pression sélective imposée par les antibiotiques, les microorganismes utilisent des technologies intelligentes qui leur permettent de s'adapter à des conditions environnementales défavorables. (Martin *et al.*, 2004)

Suite à une utilisation abusive et fréquente des antibiotiques, des souches bactériennes multirésistantes sont rapidement apparues. Actuellement, les bacilles à Gram négatif résistants aux β -lactamines produisent principalement des BL E de type CTX-M et des carbapénémases de type KPC, OXA et des métalloenzymes. Les gènes codant pour ces enzymes sont principalement localisés sur des plasmides, souvent associés à d'autres gènes de résistance à d'autres classes d'antibiotiques, ce qui crée une impasse thérapeutique. (Chemelle, 2010)

Les entérobactéries sont une grande famille de bactéries Gram négatif, elles sont impliquées dans la majorité des pathologies infectieuses humaines, représentent un intérêt médical très important et considérés comme l'origine de maladies de gravité très variable. Ces microorganismes sont souvent impliqués dans des infections nosocomiales et communautaires (septicémies, infections nosocomiales, méningites ...). La diversité des espèces de cette famille d'*Enterobacteriaceae* telles que *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* ou encore *Klebsiella pneumoniae* est accompagnée par une variété de comportements aux antibiotiques traduisant des difficultés de traitement liées principalement à leur résistance aux antibiotiques. (Paulette *et al.*, 1998 ; Souma, 2011 ; Khennouchi, 2016 ; Aweille, 2017)

Les infections liées aux soins ou infections nosocomiales constituent un grave problème de santé publique dans le monde, notamment en Algérie. Ils ont un impact majeur sur le plan financier et sur la perception des soins. Les hôpitaux, souvent considérés comme des lieux de savoir, de formation médicale et d'hygiène, peuvent dans certains cas devenir une source d'infection par manque d'hygiène organisationnelle, de conscience professionnelle ou de moyens. Les entérobactéries sont responsables d'un grand nombre d'infections nosocomiales, surtout en pédiatrie, d'une part en raison du système immunitaire fragile des enfants, et d'autre part la résistance de ces entérobactéries aux antibiotiques surtout après une large diffusion de clones résistants, ne cesse de croître, notamment par l'acquisition de β -lactamases à large spectre. (Faye et Bingen, 2012 ; Bouguenoun, 2017)

Introduction

Dans notre travail nous réalisons un contrôle microbiologique de l'environnement de service pédiatrie de l'établissement hospitalier Mohamed Boudiaf –Bouira.

Les principaux objectifs de cette étude sont :

- L'isolement et l'identification des entérobactéries les plus fréquemment retrouvées dans des prélèvements provenant de service pédiatrie de l'établissement hospitalier Mohamed Boudiaf à Bouira.
- La détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques.

Ce manuscrit contiendra :

- Une première partie bibliographique dont le premier chapitre sur la famille des entérobactéries (historique, habitat, classification, caractères bactériologiques, facteurs de virulence et pouvoir pathogène naturel), un deuxième chapitre sur la résistance aux antibiotiques et un troisième chapitre sur l'environnement hospitalier.
- Une deuxième partie pratique qui contient deux chapitres l'un présentera tous les outils et les méthodes expérimentaux et l'autre consacré à l'exposition des résultats et leurs discussions.

Partie bibliographique

Chapitre I :

Les entérobactéries

Chapitre I : Les entérobactéries

En 1937 Otto Rahn a proposé que la famille des *Enterobacteriaceae* réunisse des micro-organismes ayant des caractéristiques biochimiques et morphologiques communes, parmi lesquelles *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella* et d'autres espèces ont été trouvées, ainsi que *Bacillus*, *Proteus*, *Serratia*, *Shigella*. Deux ans après avoir décrit 112 espèces, ce nombre est tombé à 67. La famille est passée par de nombreux nouveaux genres et espèces (avec les efforts de Don Brenner et Patrick Grimont) avant d'être découverte. En 1972, Edward et Ewing ont inclus les *Enterobacteriaceae* en 26 espèces et 11 genres (un an plus tard, les *Enterobacteriaceae* comprenaient 31 genres et 139 espèces). (Larpent,2000 ; Freney *et al.*, 2007)

1. Habitat

La présence des entérobactéries dans la flore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud est leur principal caractère commun. Ainsi, leur large distribution dans la nature et l'environnement (sol et eau). Selon leur métabolisme, certaines *Enterobacteriaceae* colonisent et dégradent les produits agroalimentaires et peuvent participer au cycle naturel de la matière organique et parfois provoquer des maladies sévères chez l'homme ou l'animal. (Cristian *et al.*, 2008).

2. Classification

La famille comprend 130 espèces actuellement répertoriées. Le genre *Salmonella* est l'espèce la plus couramment isolée en bactériologie clinique, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Shigella*, *Morganella*, *Serratia*, *Yersinia* présentés dans le tableau I et II (Freney *et al.*, 2007).

Tableau I : Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries (Bergy's 2015)

Rangs taxonomiques	Classification
Domaine	<i>Bactéria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

Tableau II : classification des entérobactéries les plus rencontrées en pathologie humaine. (Bossert et Young, 1986)

Groupes	Genre	Espèce
Groupe 01	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
Groupe 02	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
	<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
Groupe 03	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>Hafnia</i>	<i>Alvei</i>
	<i>Morganella</i>	<i>Morganella morganii</i>
Groupe 04	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i>
	<i>Providencia</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i> <i>Providencia rettgeri</i>
Groupe 05	<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia</i> <i>Pseudotuberculosis</i>

3. Caractéristiques bactériologiques

3.1. Les caractères morphologiques

Toutes les espèces de cette famille « *Enterobacteriaceae* » ont généralement une morphologie typique, ils existent sous forme de bacilles à G- (2-4 µm de long/0,4-0,6 µm de large). Elles peuvent être mobiles ou immobiles avec des cils périphériques, ne forment pas de sporulation et peuvent être capsulés (*Klebsiella*) (Fig. 1). La plupart des espèces pathogènes humaines ont des facteurs d'adhésion (fimbriae ou pili). (Joly et Reynaud, 2000 ; Avril *et al.*, 2000)

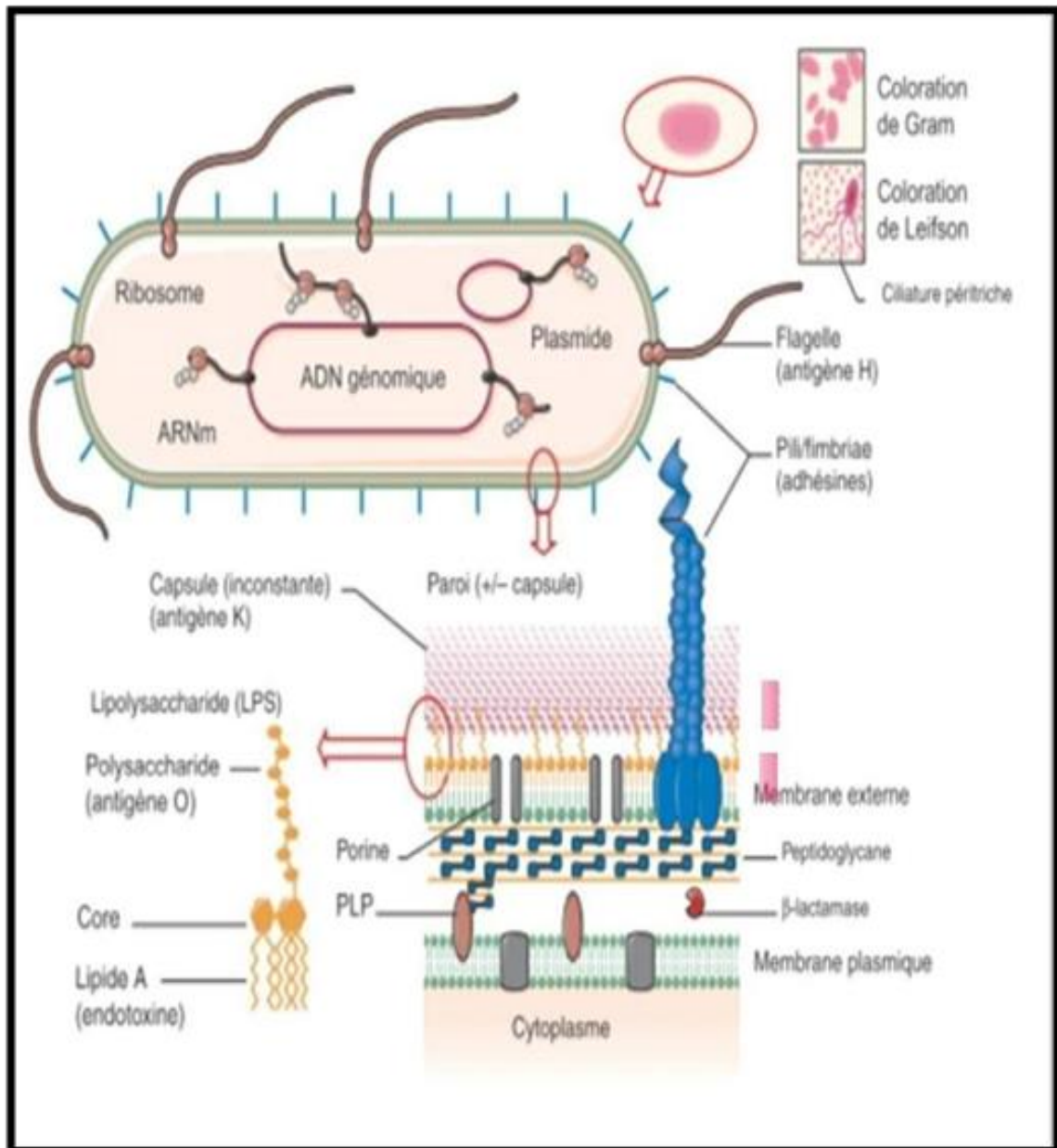


Figure 01 : Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae* (Denis *et al.*, 2007).

3.2. Les caractères cultureux

Dans des conditions aérobies et anaérobies à 37 °C, les entérobactéries se développent facilement sur des milieux courants en 24 heures. Leurs besoins en nutriments sont généralement réduits et la plupart poussent sur des milieux synthétiques contenant de simples sources de carbone comme le glucose. Ainsi, il existe cinq types :

- **Colonies S (lisses)** : rondes, lisses, humides, blanches ou translucides.
- **Colonies R (rugueuses)** : sèches avec des contours irréguliers et mates (bactéries vieillissantes ou anormales).
- **Colonies M (muqueuses)** : Grandes colonies ± confluentes.
- **Colonies envahissantes ou nappantes** : former des tapis uniformes.
- **Colonies naines** : il s'agit de souches présentant des défauts dans certaines chaînes métaboliques (Akel, 2014).

3.3. Les caractères biochimiques

Les caractéristiques qui définissent la famille doivent être mises en évidence pour confirmer que la souche est bien une *Enterobacteriaceae*. L'identification est de nature « biochimique », à partir d'études du métabolisme des protéines (production d'indole, présence d'uréase, dégradation du tryptophane) ou de la fermentation des sucres (lactose, glucose, saccharose...), de l'aptitude à utiliser le citrate, la présence des enzymes (décarboxylase, désaminase), production d'hydrogène sulfuré ou formation de gaz. Traditionnellement, l'identification s'effectue dans des tubes à essai, assurant une croissance et des réactions biochimiques simultanées. De nouvelles approches à cette méthode notamment à travers le développement de la galerie API 20E, première galerie développée pour les *Enterobacteriaceae* (Khayar, 2011).

Tableau III : Les caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés (Joly et Reynaud, 2000).

	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Levinea</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus morganii</i>	<i>Proteus rettgeri</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Pseudotuberculosis</i>
Mobilité	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+ ou (+)	-	+ ou (+)	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	+	+	+	d	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
H ₂ S	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
LDC	+	-	-	d	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
ODC	+	-	+	d	d	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-
ADH	-	-	d	d	d	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Uréase	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
TDA, PDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
Indole	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-	+	-	+	+	D	-	-
Citrate de Simmons	+	+	+	-	-	+	+	d*	+	D	d	-	+	+	-	-	-
Malonate	-	-	d	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	d	-	-	-	d*	-	-
Gélatinase	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Gaz/glucose	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	d	d	-	-	-
Mannitol	+	+	+	d	d	+	+	+	+	-	-	-	+	d	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	d	d	+	+	+	-	-	-	-	d	-	-	-	+
Saccharose	-	d	d	d	-	+	+	-	+	+	d	d	-	d	+	-	-
Arabinose	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	d	-
Inositol	d	-	-	-	-	+	d	-	d	-	-	-	+	d	-	-	-
Aldonitol	-	-	d	-	-	+	d	-	d	-	-	-	+	d	-	-	-
Galacturonate	-	+	+	+	d	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	d	-

+ : Résultat positif, - : Résultat négatif +* et d* : positif à 22°C, négatif à 37°C d : différents types biochimiques +* : positif lent (uréase+ en 18-24 heures) (+) : positif en 3 à 7 jours.

3.4. Les caractères antigéniques

La plupart des espèces d'entérobactéries partagent un antigène commun connu sous le nom d'antigène de Kunitz ou ECA (Enterobacterial Common Antigen). Il existe trois catégories d'antigènes.

- **Les antigènes O** : Ce sont des antigènes de paroi composés de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistants à l'alcool ou l'acide. L'agglutination se produit lentement et consiste en des agglutinats granulaires difficiles à dissocier par agitation. La spécificité O a été perdue par l'auto-agglutination de la souche R dans l'eau distillée.
- **Antigènes H** : présents uniquement dans les souches mobiles, ce sont des antigènes flagellaires. Ils consistent en une protéine appelée flagelline, thermolabile et inactivée par l'alcool. L'agglutination se produit rapidement et consiste en des agglutinats floconneux qui sont facilement décomposés par agitation.
- **Antigènes K** : Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe de polysaccharides. Parmi les antigènes K figurent les antigènes Vi de certaines espèces de *Salmonella* ou *Citrobacter* et les antigènes L, A et B d'*Escherichia coli*. Ces antigènes peuvent empêcher les souches qui les portent d'être inagglutinable par l'antisérum de type O, et peuvent être détruits par ébullition pendant deux heures. Les antigènes protéiques d'adhésion ou adhésines associés à la présence de pili sont classés en antigènes K (K88, K99) (Avril *et al.*, 1992).

4. Facteurs de virulence et pouvoir pathogène

Définir les facteurs de virulence et comprendre les mécanismes impliqués dans la virulence des souches d'entérobactéries sont des préalables nécessaires à l'évaluation des risques de santé publique liés à la présence de ces pathogènes. Les souches pathogènes se distinguent des souches commensales par l'expression de facteurs de virulence, dont les gènes sont majoritairement présents sur les plasmides. Nous distinguons :

- **Antigènes d'adhésion ou adhésines** : typifiés par les pili, qui permettent aux bactéries d'adhérer aux cellules (système urinaire, cellules intestinales). L'adhérence est une étape essentielle dans la pathogenèse des infections causées par les entérobactéries.
- **Toxines** : Il existe une variété de toxines, certaines semblables à *Shigella* toxine et d'autres à *Vibrio cholerae*.

- **Enzymes inactivant les antibiotiques** : fournissent des mécanismes de résistance aux bactéries. Les plus connues sont les bêta-lactamases (pénicillinases, céphalosporinases) et les enzymes qui inactivent les aminosides.
- **Capsule** : Sur la base de la spécificité du polysaccharide capsulaire, le sérotype de l'antigène K 77 a été identifié et diverses études ont montré que l'hyperglycémie semble être un facteur favorisant la formation de capsules et donc l'augmentation de la virulence des bactéries pathogènes. Les capsules représentent l'un des facteurs de virulence de *Klebsiella* et de certaines souches d'*E. coli* (**Belkaid.,2014**).

Chapitre II :

La résistance aux antibiotiques

Chapitre II : La résistance aux antibiotiques

1. Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules naturelles, synthétiques ou semi-synthétiques capables de détruire des micro-organismes ou du moins de limiter significativement leur reproduction. Le terme est couramment utilisé pour des molécules ayant des effets antimicrobiens (bactéricides ou bactériostatiques). Ils sont classés en fonction de leur mode d'action, spectre d'activité, l'origine de la molécule et la structure chimique. (Sekhsokh *et al.*, 2008 ; Nadmi *et al.*, 2010)

2. Les cibles bactériennes des antibiotiques

Il existe différents types d'antibiotiques qui agissent sur les bactéries (bactéricides ou bactériostatiques) selon différents mécanismes (Fig. 2) ; antibiotiques bactéricides agissant sur la paroi bactérienne en inhibant les peptidoglycanes (bêtalactamines, de glycopeptides et de fosfomycines). La colistine et la polymyxine B agissant sur la membrane cytoplasmique en perturbant sa synthèse et sont actifs contre les bacilles à Gram négatif. D'autres inhibent la synthèse protéique après s'être liés aux ribosomes bactériens (sous-unités 30S et 50S), ces derniers empêchent la traduction de l'ARNm et la formation de nouvelles protéines, sont des exemples de tétracyclines, d'aminoglycosides, de chloramphénicol et de macrolides. Pour l'inhibition de la synthèse ou le fonctionnement des acides nucléiques se fait de différentes manières selon la famille d'antibiotique en inhibant la réplication de l'ADN, la transcription /ARN polymérase et en réduisant la synthèse des précurseurs de nucléotides, on a la rifampicine, les sulfamides, les quinolones et le triméthoprime. Ainsi que des antibiotiques bactéricides agissant sur le métabolisme intermédiaire (le cotrimoxazole) qui inactive les enzymes impliquées dans la synthèse des purines et de certains acides aminés essentiels. (Bauskraoui *et al.*, 2017)

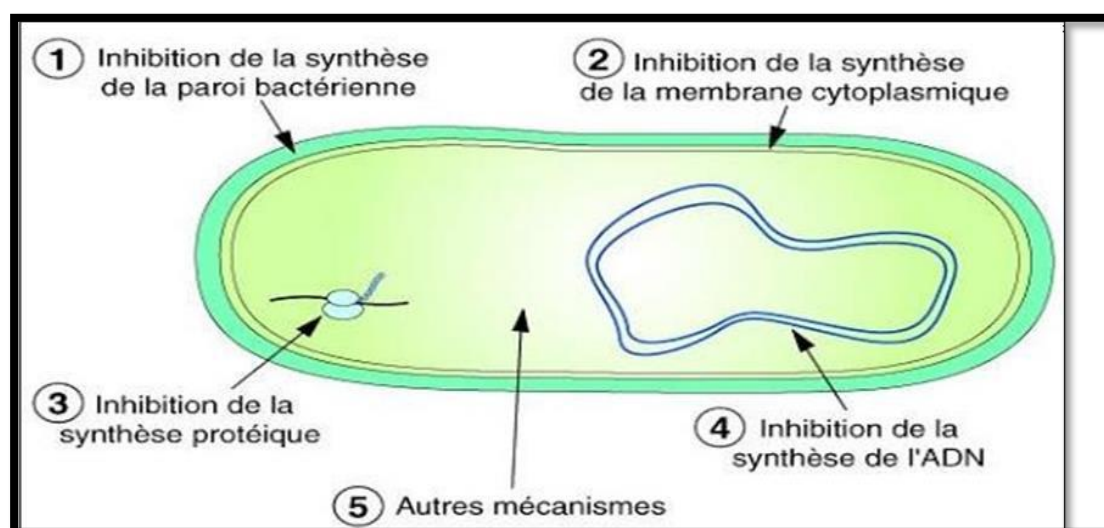


Figure 02 : mécanismes d'action des antibiotiques (Bauskraoui *et al.*, 2017).

3. Antibiotiques actifs sur les entérobactéries

Tableau IV : Les antibiotiques actifs sur les entérobactéries.

Famille	Mode d'action sur les entérobactéries	Références
Bêtalactamines	Agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne et le cycle lactame, se lie de manière covalente et irréversible et inactive le site actif de l'enzyme responsable de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane (PLP).	(Lagha, 2015).
Aminosides	Inhibent la synthèse des protéines bactériennes en se liant aux ribosomes (sous-unité 30S) et conduit à une synthèse protéique altérée, soit en inhibant la traduction, soit en provoquant des erreurs lors de la lecture du code génétique.	(Molitor, 2010).
Quinolones	Inhibent l'élongation de l'ADN et bloquent la réplication en inhibant la fonction de deux enzymes, la topoisomérase II (ou ADN gyrase) et la topoisomérase IV.	(Mamod, 2016).
Polymixines	Se fixent sur le LPS (à la place des ions Ca ⁺⁺ et Mg ⁺⁺) provoquant une désorganisation de la paroi externe et une augmentation de la perméabilité de la membrane cytoplasmique.	(Dortet et al., 2016)
Fosfomycine	Inhibe la première étape de la synthèse de la paroi cellulaire (Inhibition de la pyruvyltransférase), exerçant ainsi son effet bactéricide.	(Konare, 2018).
Chloramphénicol	Inhibe la synthèse des protéines par liaison réversible au site A du ribosome	(Minor et Richard, 1993).

4. La résistance bactérienne chez les entérobactéries

La résistance aux antibiotiques est la capacité des micro-organismes à résister aux effets des antibiotiques. La résistance aux antibiotiques des *Enterobacteriaceae* varie selon les espèces (résistance naturelle) et les souches (résistance acquise) **(Bonnet, 2012)**.

4.1. Résistance naturelle chez les entérobactéries

C'est la résistance de toutes les souches d'une même espèce bactérienne à un antibiotique donné. Elle correspond à la présence d'un ou plusieurs mécanismes de résistance innés, héréditaire et transmis verticalement à la descendance. Par exemple, *Klebsiella pneumoniae* a une résistance naturelle aux aminopénicillines (par exemple, l'amoxicilline) et aux carboxypénicillines (par exemple, la ticarcilline)

en sécrétant la pénicillinase, *Enterobacter sp* est résistant aux céphalosporines première génération et deuxième génération par la production d'une céphalosporinase chromosomique (Bonnet, 2012).

5. Mécanismes de résistance acquise chez les entérobactéries

C'est l'acquisition de nouveaux gènes qui rendent les bactéries insensibles à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être acquis par mutation au niveau chromosomique, ce qui est un phénomène rare, ou par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou transposons (mécanisme le plus courant). (Yala *et al.*, 2001)

5.1. Résistance non enzymatique

- **Diminution de la perméabilité**

Les porines sont des canaux protéiques remplis d'eau à travers lesquelles les β -lactamines pénètrent la membrane externe. Par conséquent, la sensibilité aux β -lactamines dépend de la quantité de porines fonctionnelles. L'altération de ces derniers par mutation est à l'origine de la résistance acquise aux β -lactamines, soit par des modifications structurales des porines essentielles comme décrit chez *E. coli*, soit par la diminution du nombre de porines, ce qui est le plus fréquent. Pour les quinolones est principalement due à des mutations chromosomiques exprimés par une diminution de sa pénétration transmembranaire. (Ndiaye, 2005 ; Mkaouar *et al.*, 2008)

- **Hyperproduction de système d'efflux**

Pour qu'un aminoglycoside antibiotique soit actif, il doit être capable de pénétrer efficacement la paroi cellulaire bactérienne et de se lier aux ribosomes. Pour qu'il puisse traverser une paroi, il doit avoir un potentiel électrique. Le potentiel de la paroi cellulaire est principalement généré par la respiration cellulaire. Les bactéries à Gram négatif possèdent des pompes à efflux chargées de réduire les concentrations intracellulaires. La présence de la pompe les rend résistantes à plusieurs aminoglycosides (pompe AcrD chez *E. coli*). Les quinolones ont un système d'efflux actif à travers la porine OPRD. (Ya Bi Foua, 2006 ; Mkaouar *et al.*, 2008)

- **Modification de cible**

Cette résistance peut se produire par mutation du gène chromosomique codant pour PLPs ou par l'acquisition d'un gène étranger codant pour un nouveau PLPs avec une affinité différente pour les β -lactamines. Pour les aminosides ce mécanisme est le résultat de mutations génétiques bactériennes, rares en pratique clinique ; Altération des cibles par le changement dans une protéine ribosomale (sous unité 30S) entraîne une diminution de l'affinité du ribosome pour un antibiotique ou par méthylation

post-transcriptionnelle de l'ARNr 16s au niveau du site de liaisons des aminosides. Pour les quinolones une mutation de gène codant pour la sous-unité « GyrA » de l'ADN gyrase ou pour la sous-unité « ParC » de la topoisomérase IV diminue l'affinité de l'antibiotique pour sa cible et la protection de la cible par les protéines qnr (résistance plasmidique). (Ndiaye, 2005)

5.2. Résistance enzymatique

5.2.1. Production de β -lactamases

La résistance aux bêtalactamines est basée sur la production d'enzymes appelées bêta-lactamases. Cette résistance peut être naturelle (bêta-lactamase chez *Klebsiella spp*) ou acquise. Les β -lactamases sont des enzymes situées au niveau de l'espace périplasmique des bactéries Gram-négatives et quelques Gram positives, responsables de l'inactivation des bêtalactamines en hydrolysant la liaison amide du cycle β -lactame. (Livermor, 1995 ; Abbassi, 2010)

Sont classées en fonction de leurs substrats, ainsi que leur sensibilité aux inhibiteurs des bêta-lactamases ; selon Ambler (structurale) sont divisés en quatre classes A, C, D qui sont des enzymes à serine active, et de classe B qui sont des métallo-enzymes nécessitant des ions Zn^{2+} . Et selon Bush, Jacoby et Medeiros (fonctionnelle selon le substrat hydrolysé). (Bush et Jacoby, 1995 ; Materon *et al.*, 2004)

- **Mode d'action des bêta-lactamases**

Ces enzymes hydrolysent les β -lactamines en ouvrant le cycle β -lactame, entraînant la perte de groupements carboxyle, conduisant à l'inactivation des antibiotiques apparentés. Les β -lactamases catalysent efficacement et de manière irréversible l'hydrolyse des ponts amides des cycles β -lactames des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et des carbapénèmes, produisant des enzymes acyl qui sont ensuite dégradées en acides inactifs. Ainsi, les céphalosporines sont dégradées en acide céphalosporoïque et les pénicillines en acide pénicilloïque entraînant l'inactivation de l'antibiotique. (Gadou, 2017)

Il existe plusieurs types de bêta-lactamase, on distingue :

- **Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)**

Les bactéries à BLSE, dites multirésistantes, constituent un groupe d'enzymes à large spectre appartenant à la classe A tel que PEM, SHV et CTX-M (À l'exception des BLSE de type OXA classe D) de la classification d'Ambler. Capables d'hydrolyser les pénicillines, toutes les générations de céphalosporines et les monobactames, inhibés par l'acide clavulanique. (Gangoue, 2007)

C'est un mécanisme de résistance de type plasmidique et donc transmissible à d'autres bactéries. Parmi les *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* étaient les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ces mécanismes de résistance. (Yassine, 2011)

➤ **Les céphalosporinases**

Appartient aux β -lactamase classe C (AmpC, DHA, CMY), codée par un gène plasmidique ou chromosomique. Ces enzymes sont capables d'hydrolyser les céphalosporines, y compris les pénicillines et les céphamycines (céfoxitine), mais pas la céfépime et résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases. (Lagha, 2015)

➤ **Les carbapénémases**

Ce sont des enzymes qui ont la capacité d'hydrolyser le cycle β -lactame des β -lactamines. Ils hydrolysent les carbapénèmes (KPC, MBL) avec plus ou moins d'efficacité, et l'hydrolyse des autres β -lactamines est variable selon le type d'enzyme. Les carbapénémases sont des bêta-lactamases de classe A, B (métallo-béta lactamase) ou D. (Hashemi *et al.*, 2013)

5.2.2. Aminosidase

Pour les aminosides la résistance enzymatique est le mécanisme le plus fréquent, les enzymes inactivatrices sont des gènes situés sur des transposons ou sur des plasmides autotransférables et sont responsables de résistance chez les aminoglycosides. Il existe 3 enzymes : les aminoglycosides phosphotransférases (APH), les aminoglycosides adényltransférases (ANT) et les aminoglycosides acétylases (AAC). (Ya Bi Foua, 2006)

Partie pratique

Chapitre IV :

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

1. Cadre d'étude

Notre travail est porté sur l'isolement, identification et l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées des différentes surfaces du service pédiatrie de l'établissement hospitalier Mohamed Boudiaf à Bouira.

Dans notre étude nous avons utilisé des méthodes d'isolement classiques connues pour la recherche de ces germes, et ce travail a eu lieu au niveau du laboratoire d'analyses médicales Dr SELMI épouse SILERBI d'une période allant du 1 Mars au 5 juin 2023.

- Le matériel utilisé est présent dans l'annexe 01.

2. Prélèvement et enrichissement

Les prélèvements ont été effectués par écouvillonnage et acheminés immédiatement au laboratoire pour être analysés. Afin de réaliser un enrichissement, ces écouvillons ont été remplis avec un volume connu (10 ml) du bouillon nutritif et les incubés à 37°C pendant 24 heures.

Dans le but d'identifier les bactéries du milieu hospitalier, 64 prélèvements ont été établis à partir des différents sites des différentes chambres de service pédiatrie, (lits des malades, couveuses, tables, chaise, bouteille d'oxygène, tables de préparation des traitements, matériels du soin, murs, vêtements, lavabo, mains des enfants). Les détails sont rapportés dans le Tableau V :

Tableau V : Prélèvements réalisés au niveau du service pédiatrie.

Numéro de série	Date de Prélèvement	Lieu de prélèvement	Sites de prélèvements	Nombre des échantillons
Série N°01	22/03/2023	Chambre des couveuses N°1	<ul style="list-style-type: none"> • Intérieur et extérieur de la couveuse A et B. • Bouteille d'O2. • Mur. • Table. 	07
		Chambre des couveuses N°02	<ul style="list-style-type: none"> • Intérieur et extérieur de la couveuse A et B. • Bouteille d'O2. • Mur. • Table. • Matériels du soin. 	08
		Chambre du plaque chauffante	<ul style="list-style-type: none"> • Intérieur et extérieur de la plaque chauffante. • Mur. • Table. • Vêtements. 	05
		Chambre d'hospitalisation N°02	<ul style="list-style-type: none"> • Intérieur et extérieur du lit A et B. • Mains des enfants (2,5 et 5 ans). • Mur. • Table. • Table de préparation des traitements. • Vêtements. 	10
		Chambre d'hospitalisation N°04	<ul style="list-style-type: none"> • Intérieur et extérieur du lit A et B. • Mains des enfants (7 mois et 3 ans). • Mur. • Table de préparation des traitements • Vêtements. 	09
		Chambre d'hospitalisation N°03	<ul style="list-style-type: none"> • Intérieur et extérieur du lit A. • Mains d'enfant (2 mois et demi). • Mur. • Table. 	05
Série N°02	06/05/2023	Chambre des couveuses N°03	<ul style="list-style-type: none"> • Intérieur et extérieur de la couveuse A et B. • Bouteille d'O2. • Mur. • Table. • Vêtements du bébé. 	08
		Chambre d'hospitalisation N°03	<ul style="list-style-type: none"> • Intérieur et extérieur du lit A et B. • Mains des enfants (9 jours et 11 ans). • Vêtements (A, B). • Mur. • Table. • Chaise. • Lavabo. 	12

3. Isolement et purification

L'isolement est réalisé sur le milieu de culture Mac Conkey, suivant la méthode des striés à l'aide d'une anse de platine. Les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Plusieurs repiquages ont été réalisés sur gélose EMB et Mac Conkey et incubés à 37°C pendant 24 heures afin d'avoir des cultures pures.

4. Identification

L'identification des isolats est portée sur une série des tests préliminaires (examen macroscopique) et tests biochimiques. Cette identification a été réalisée comme suit :

4.1. Etude macroscopique

Dans cet examen, après incubation de 24 heures, on peut déterminer :

- La forme et l'aspect des colonies soit ronde, bombée, lisse, (régulier ou irrégulier) ;
- La couleur des colonies (colorés ou incolores).
- La taille des colonies.
- Le contour.
- Le type.

4.2. Identification biochimique

L'identification des souches est faite par une galerie API 10s (Biomérieux). L'ensemencement se déroule comme suivant :

On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 3 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boîte d'incubation. A partir d'une culture jeune, on prélève une colonie bien isolée dans 5ml d'eau physiologique et on prépare une suspension bactérienne équivalente à 0,5 Mc Ferland, puis on l'introduit dans chaque tube (et non pas les cupules) des tests ONPG, GLU, ARA, LDC, ODC, H₂S, URE, TDA, IND à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ouverte (pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles), sauf le test CIT on remplit le tube et la cupule. On réalise une anaérobiose dans les tests LDC, ODC, H₂S, et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine et on referme la boîte d'incubation et on l'incube à 37°C pendant 24H.

Après incubation, on note sur la fiche de résultats, toutes les réactions spontanées. La révélation des TDA, IND et NO₂ est faite par l'ajout d'une goutte des réactifs nécessaires (TDA, JAMES et NIT1+NIT2) et on réalise le test oxydase hors de la galerie en additionnant de l'eau oxygénée à quelques colonies bien isolées. On fait la lecture à l'aide d'un tableau de lecture et l'identification à

l'aide du logiciel **apiwebTM Biomérieux** (une liste des profils de la notice aussi peut être utilisée).

5. Etude de la sensibilité aux différentes familles d'antibiotiques

5.1. Principe

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été testée par la technique de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller-Hinton.

5.2. Technique

A partir d'une culture pure de 24 heures sur milieu d'isolement approprié, on réalise une suspension bactérienne correspondant au 0.5 Mc Ferland et bien l'homogénéiser. A partir de cette dernière et à l'aide d'un écouvillon, on ensemence des boîtes de gélose Mueller Hinton en stries serrées de haut en bas et on répète l'opération 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et on finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. On dépose les disques sur la surface de gélose uniformément à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact avec le milieu et en respectant une distance de 25 à 30 mm entre les disques d'antibiotiques.

5.3. Résultats à obtenir

L'interprétation des résultats de l'antibiogramme est réalisée selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) publiées en 2018. Selon les diamètres de la zone d'inhibition autour du disque (mesurer à l'aide du pied à coulisse), trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité ce qui permet de conclure est ce que la souche est sensible, intermédiaire ou résistante aux antibiotiques testés.

5.4. Choix des antibiotiques

Les antibiotiques utilisés dans cette étude ont été fait selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2018. La liste des antibiotiques testés est présentée dans le Tableau VI.

Tableau VI : Liste des antibiotiques testés (CA-SFM-2018).

Famille	Groupe	Antibiotique	Abréviation	Charge du disque
β-lactamines	Pénicillines	Ticarcilline + acide clavulanique	TTC	5 µg
		Pipéracilline	PRL	30 µg
	Céphalosporines	Ceftazidime	CAZ	30 µg
		Céfixime	CFM	5 µg
		Céfépime	FEP	30 µg
	Monobactames	Aztréonam	ATM	30 µg
Aminosides	/	Tobramycine	TOB	10 µg
		Nétilmicine	NET	30 µg
		Amikacine	AK	30 µg
		Gentamicine	CN	120 µg
Quinolones	Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5 µg
Polymixines		Colistine	CT	10 µg

Chapitre V :

Résultats et discussion

Résultats

1. Souches bactériennes

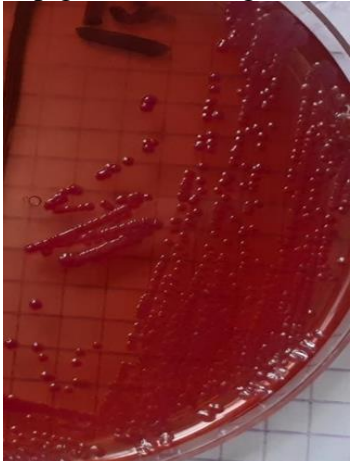

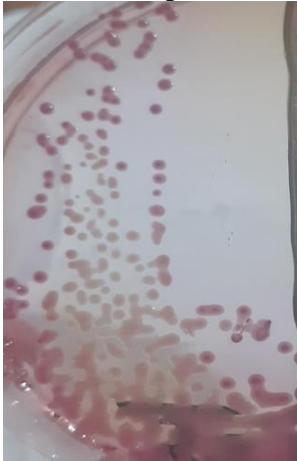
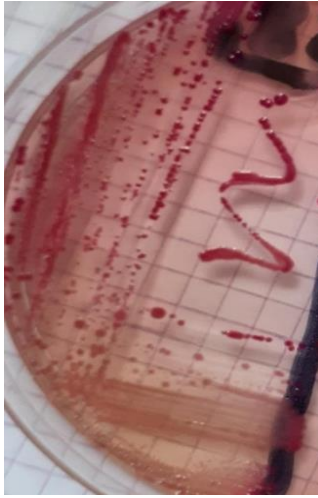






Dans la présente étude, 64 prélèvements ont été réalisés à partir de différentes surfaces du service de pédiatrie de l'hôpital Mohamed Boudiaf de la ville de Bouira (Tableau V) pendant une période qui s'est étalée de 01/03/2023 au 05/06/ 2023, parmi les 38 souches isolées 59% appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*.

2. Identification

2.1. Caractères cultureux (Examen macroscopique des isolats)

L'identification des isolats repose sur des critères macroscopiques des colonies par la détermination de la forme des colonies, la taille, la surface sur les milieux de cultures (lisse, rugueuses...), la couleur. Les isolats obtenus ont donné divers aspects sur les milieux de culture utilisées (Mac Conkey et EMB). Les résultats sont mentionnés dans (Tableau VII).

Tableau VII : Aspect microscopique de différentes bactéries isolées des prélèvements de service de pédiatrie de l'hôpital de Bouira Mohamed Boudiaf.

Le nom de la bactérie	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Hafnia alvei</i>
Le nombre des souches	18	9	5	5	1
L'aspect macroscopique sur Mac Conkey	<p>Colonies de 1 à 3 mm, opaques, circulaires. et pigmenté en rouge.</p> 	<p>Colonies plates, sèches et roses entourées d'une zone rose plus foncée de sels biliaires précipités.</p> 	<p>Colonies mucoïdes, grandes (4 à 6 mm) et rose foncé à pâle.</p> 	<p>Colonies incolores à rose clair.</p> 	<p>Des petites colonies incolores à jaunes.</p> 
L'aspect macroscopique sur EMB	<p>Petites colonies grisâtres.</p> 	<p>Colonies de 2 à 3 mm, plates, noirçissantes avec un reflet vert métallique brillant.</p> 	<p>Grosses colonies convexes de couleur rosé, muqueuses et tendance à confluer.</p> 	<p>Grosses colonies convexes de couleur rosé.</p> 	<p>Petites colonies grisâtres de 1 à 2 mm de diamètre.</p> 

2.2. Identification biochimique des isolats

L'identification biochimique de 38 isolats bactériens, a été effectuée par Api 10s. Les résultats obtenus sont illustrés dans le Tableau VIII et les figures dans l'annexe 2.

Tableau VIII : Profil numérique de 38 souches d'entérobactéries isolées à partir de service pédiatrie identifier par Api 10s.

<i>Bactéries isolées</i>	<i>Profil numérique</i>	<i>Effectif</i>
<i>Serratia marcescens</i>	7720	16
<i>Serratia marcescens</i>	3524	01
<i>Serratia marcescens</i>	6720	01
<i>Escherichia coli</i>	7305	07
<i>Escherichia coli</i>	7730	02
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7524	03
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7120	02
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5724	05
<i>Hafnia alvei</i>	6724	01
<i>Totale</i>		38

3. Répartition des espèces des entérobactéries isolées

Parmi les 38 souches d'entérobactéries isolées, la dominance a été attribuée à *Serratia marcescens* avec 47%, suivie d'*Escherichia coli* avec 24% *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter aerogenes* avec 13% et *Hafnia alvei* avec un faible pourcentage de 3%.

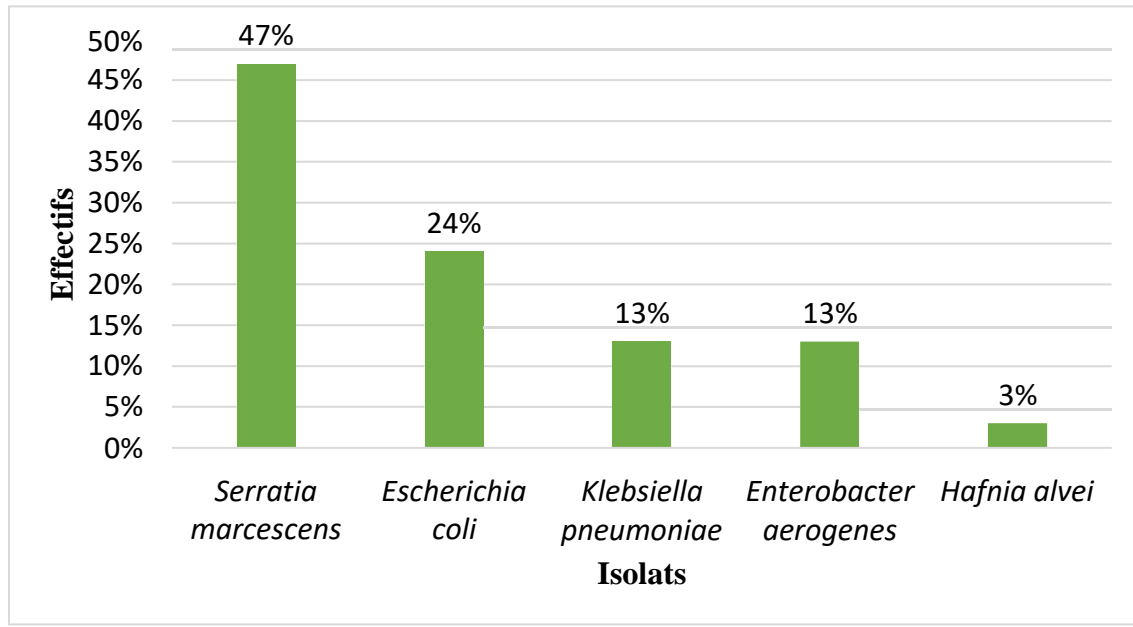


Figure 03 : Répartition des espèces des entérobactéries isolées à partir de différentes surfaces du service pédiatrie.

3.1. La distribution des souches isolées par chambres

Les 38 isolats d'entérobactéries sont repartis d'une façon hétérogène dans les trois types des chambres de service pédiatrie : chambres d'hospitalisation, des couveuses et de plaques chauffantes. Concernant les chambres des couveuses, les résultats ont montré la présence de 12 souches d'entérobactéries (31.5% dans les trois chambre), on a marqué un pourcentage élevé de 58 % dans un ensemble de quatre chambres d'hospitalisation et 10.5 % de souches dans la chambre de la plaque chauffante.

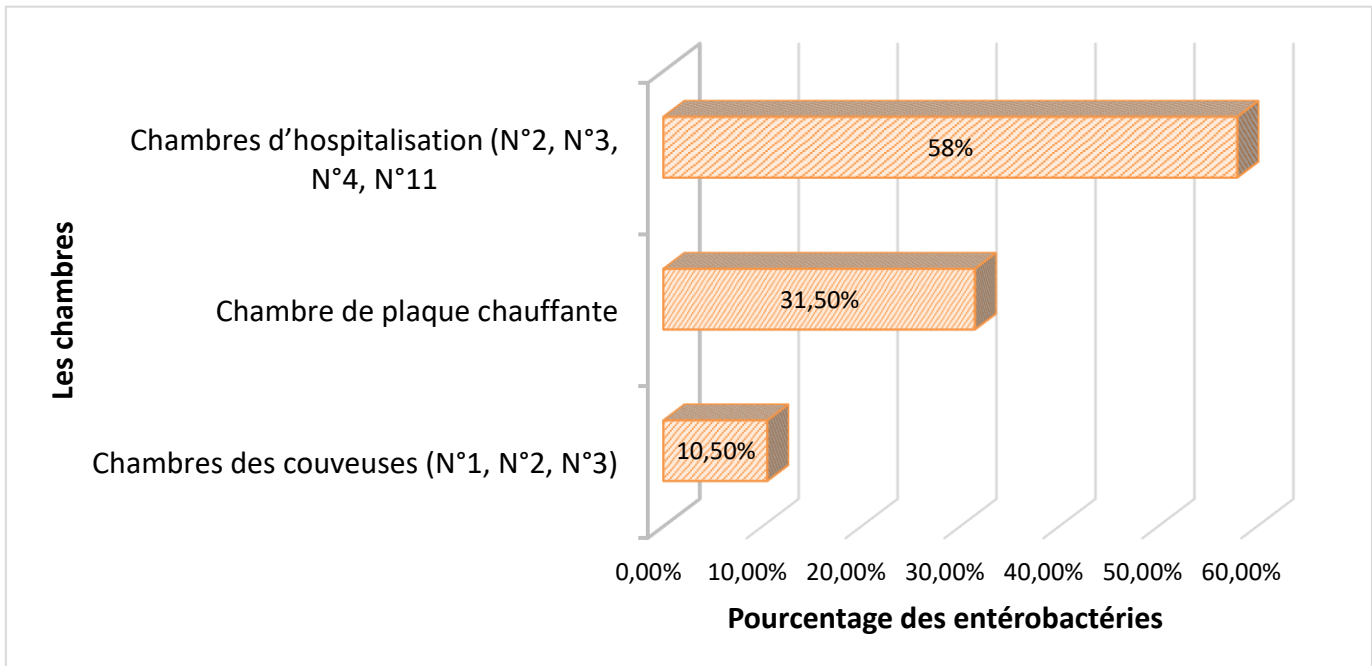


Figure 04 : Distribution des entérobactéries isolées à partir de 3 types de chambres (d'hospitalisation, des couveuses et de plaque chauffante).

3.2. La distribution des souches isolées par sites de prélèvement

D'après nos résultats cette figure (05) montre que la présence des entérobactéries est à 26% sur les lits suivis par 18% sur les couveuses, 16% sur les vêtements et 10% sur les murs et sur les mains des enfants.

Les résultats montrent aussi que le faible pourcentage d'entérobactéries a été isolé à partir des bouteilles d'oxygène (5%) et à partir des tables de traitement, tables, plaque chauffante, chaise, lavabo (3%) et une absence totale de ces derniers dans le matériel de soins.

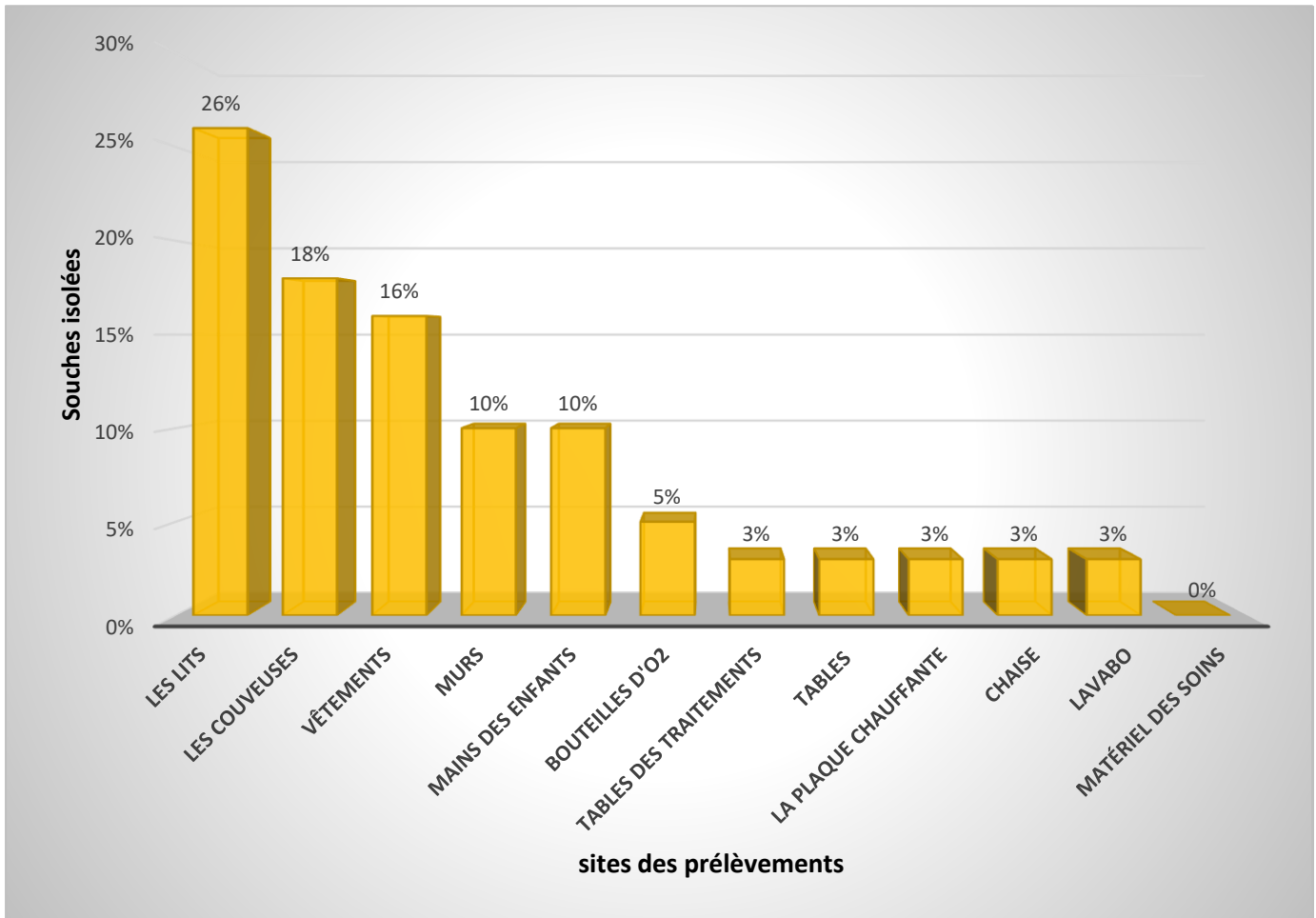


Figure 05 : Répartition des souches isolées par sites de prélèvement.

4. Profil de résistance des entérobactéries isolées aux antibiotiques

L'antibiogramme de toutes les entérobactéries ont révélé une faible résistance aux β -lactamines particulièrement aux Ticarcilline + acide clavulanique, Céfépime (16%) suivis par 14% pour Pipéracilline, Azétronam puis 12% pour Céfixime et 10% pour Ceftazidime. En revanche, une résistance très faible de 6% aux Quinolones, de 8% aux Tobramycine, de 4% à la Colistine et une sensibilité totale aux Nétilmicine, Gentamycine et à l'Amikacine a été marquée (Figure 06).

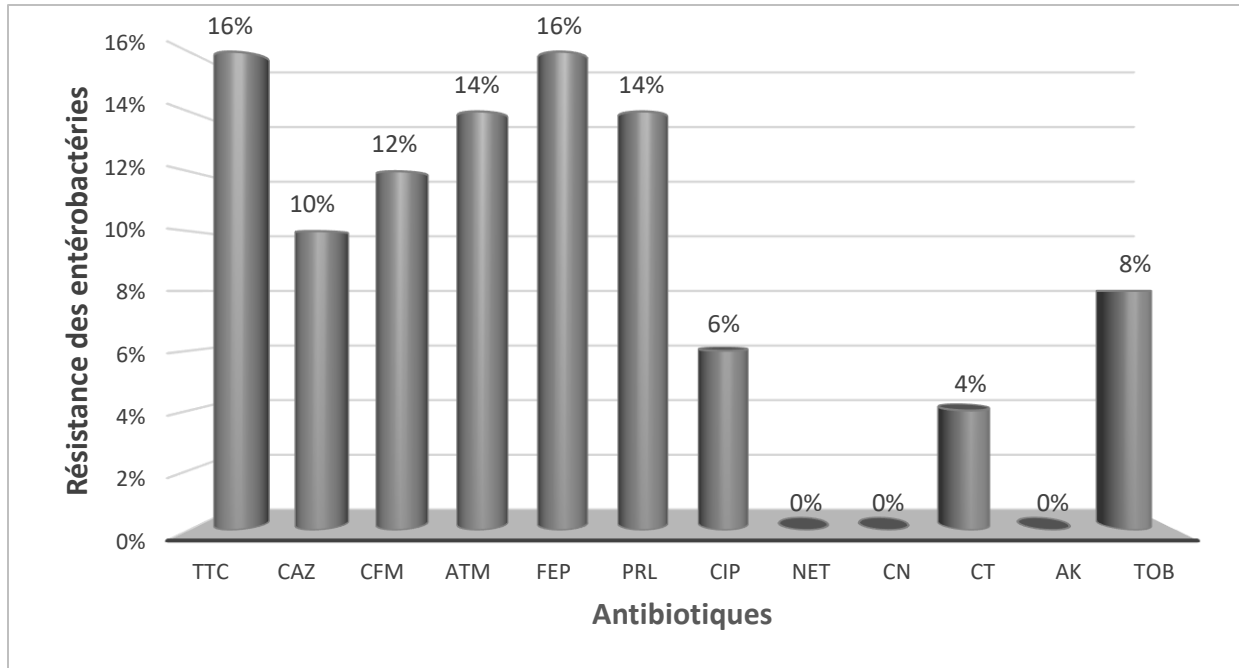


Figure 06 : Profil de résistance des 20 souches d'entérobactéries vis-à-vis aux antibiotiques testés.

TTC : Ticarcilline + acide clavulanique, CAZ : Ceftazidime, CFM : Céfixime, ATM : Aztréonam, FEP : Céfépime, PRL : Pipéracilline, CIP : Ciprofloxacine, NET : Nétilmicine, CN : Gentamycine, CT : colistine, AK : Amikacine, TOB : Tobramycine.

4.1. Profil de résistance aux antibiotiques de quelques espèces

4.1.1. Profil de résistance des souches d'*E. coli* aux antibiotiques

Parmi les 9 souches d'*E. coli* testées, 18.75% sont résistantes à la céfépime et l'azétronam. On a remarqué également une faible résistance de 12.5% pour les autres β -lactamines (Ticarcilline + acide clavulanique, Céfixime, pipéracilline), et très faible (6.25%) pour Ceftazidime, Ciprofloxacine, Colistine et Tobramycine.

Une absence de résistance a été remarquée vis-à-vis des aminosides (Nétilmicine, Gentamycine et Amikacine).

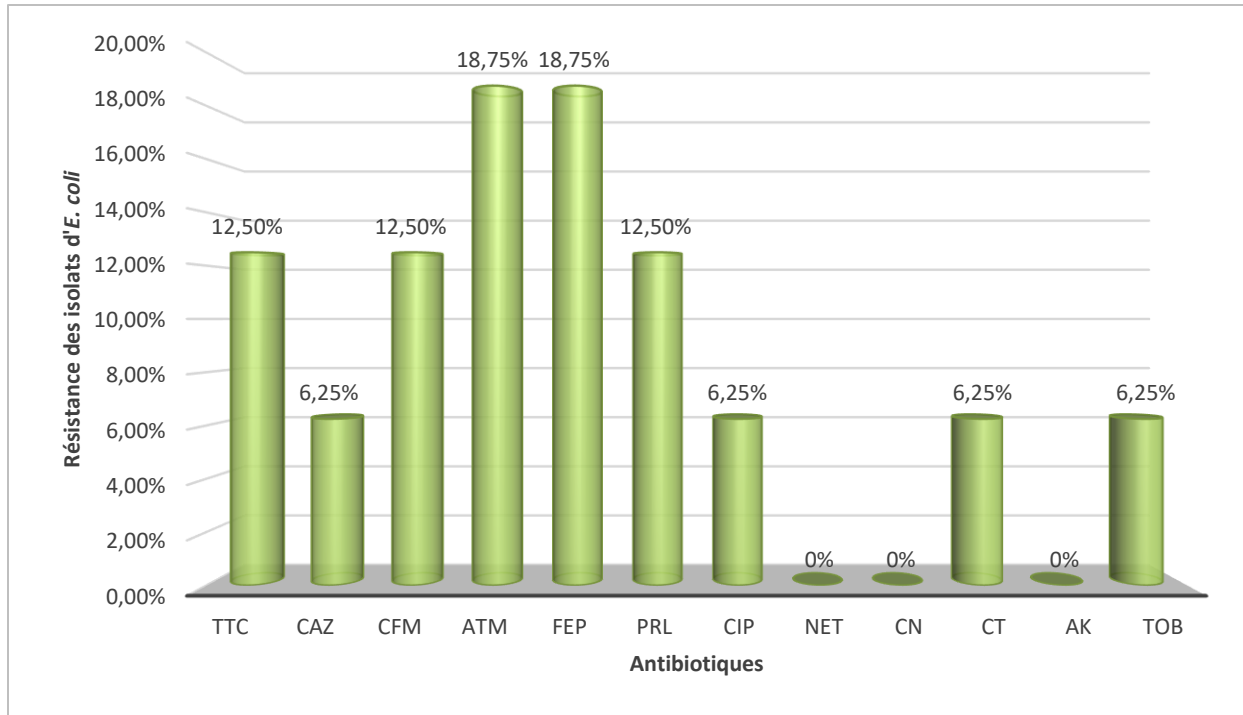


Figure 07 : Profil de résistance des isolats d'*Escherichia coli* aux antibiotiques.

TTC : Ticarcilline + acide clavulanique, CAZ : Ceftazidime, CFM : Céfixime, ATM : Aztréonam, FEP : Céfépime, PRL : Pipéracilline, CIP : Ciprofloxacine, NET : Nétilmicine, CN : Gentamycine, CT : colistine, AK : Amikacine, TOB : Tobramycine.

4.1.2. Profil de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

Les souches de *K. pneumoniae*, ont montré une résistance faible vis-à-vis la Ticarcilline + acide clavulanique avec 28%, Pipéracilline avec 18% et une résistance très faible pour les autres β -lactamines et Tobramycine (9%).

Également une sensibilité totale pour Nétilmicine, Gentamicine, Colistine et l'Amikacine.

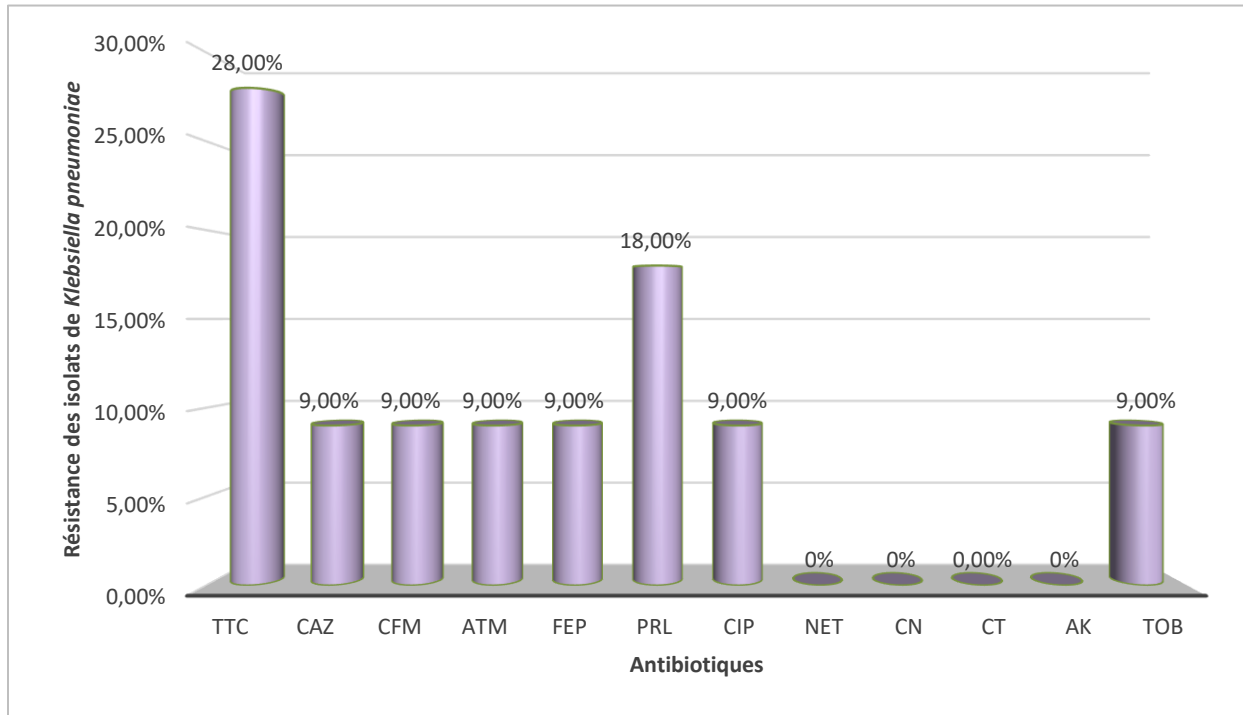


Figure 08 : Profil de résistance aux antibiotiques des *Klebsiella pneumoniae* isolés.

TTC : Ticarcilline + acide clavulanique, CAZ : Ceftazidime, CFM : Céfixime, ATM : Aztréonam, FEP : Céfépime, PRL : Pipéracilline, CIP : Ciprofloxacine, NET : Nétilmicine, CN : Gentamicine, CT : colistine, AK : Amikacine, TOB : Tobramycine.

4.1.3. Profil de résistance des souches d'*Enterobacter aerogenes* aux antibiotiques

Enterobacter aerogenes a présenté un taux de 13.6% de résistance aux β -lactamines, 9% pour la Tobramycine.

Une très faible résistance a été remarquée vis-à-vis Ciprofloxacine, Colistine (4.5%) et une absence totale de résistance vis-à-vis la Nétilmicine, Gentamicine et l'Amikacine.

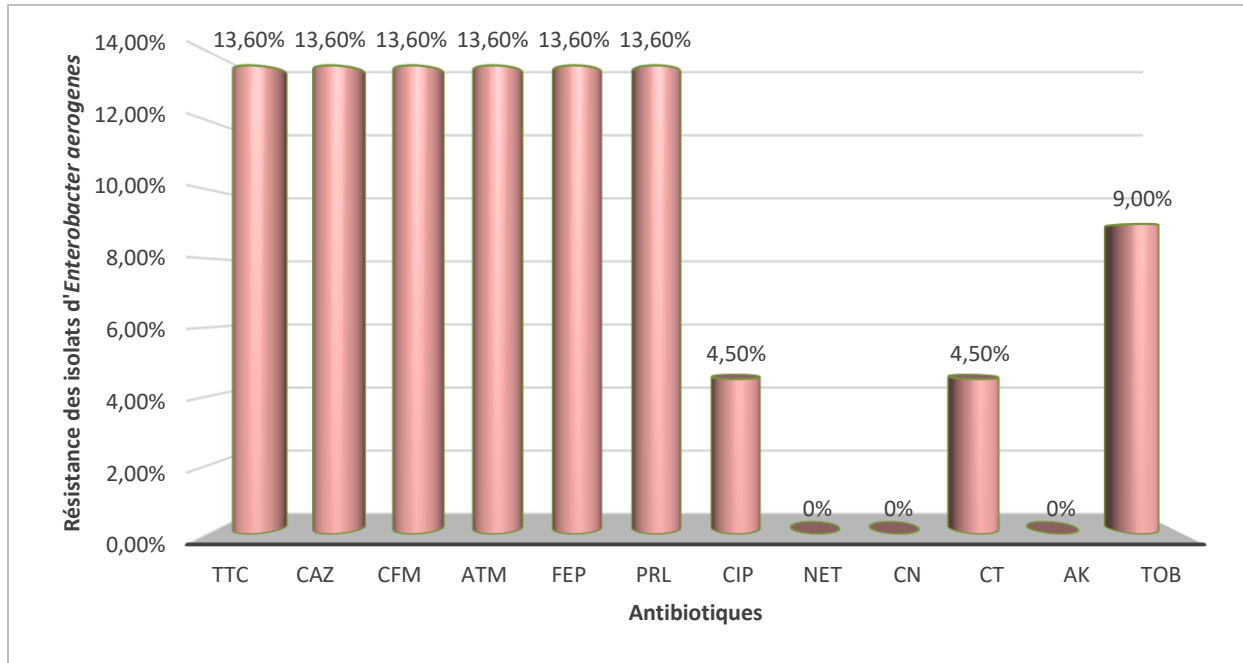


Figure 09 : Profil de résistance des isolats d'*Enterobacter aerogenes* aux antibiotiques.

TTC : Ticarcilline + acide clavulanique, CAZ : Ceftazidime, CFM : Céfixime, ATM : Aztréonam, FEP : Céfépime, PRL : Pipéracilline, CIP : Ciprofloxacine, NET : Nétilmicine, CN : Gentamycine, CT : colistine, AK : Amikacine, TOB : Tobramycine.

03 souches parmi les 06 souches résistantes ont probablement présenté un phénotype de résistance par une production de BLSE ; *E. coli* (N°18), *K. pneumoniae* (N°48) et *E. aerogenes* (N°16) (figure 10).

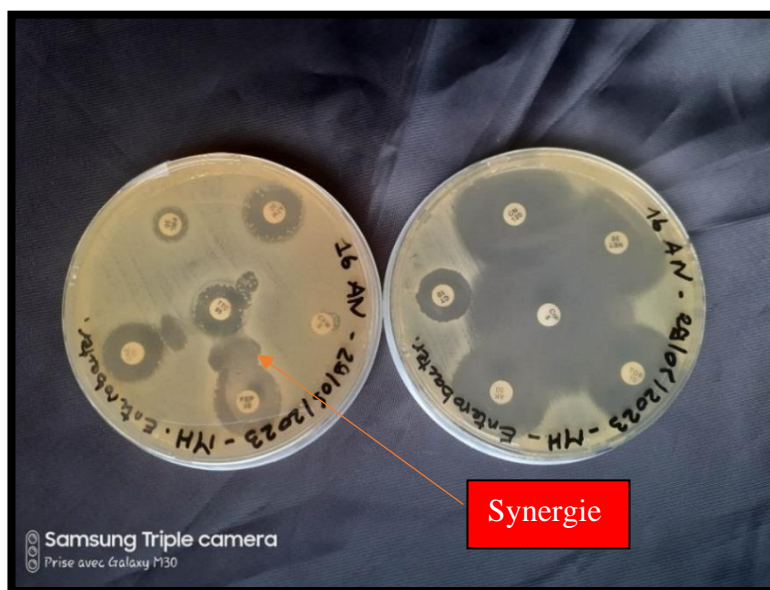


Figure 10 : Résultat de l'antibiogramme de la souche *E aerogenes* (N°16).

Discussion

Notre étude a porté sur 38 souches d'entérobactéries collectées durant une période de 3 mois du (1 Mars 2023 au 5 juin 2023), à partir de différentes surfaces de service pédiatrie de l'hôpital Mohamed Boudiaf –Bouira.

Durant cette période d'étude 64 prélèvements ont été effectués à partir de différentes surfaces de service pédiatrie. Parmi ces prélèvements nous avons isolées 38 souches d'entérobactéries qui représentent 59%. La fréquence des souches d'entérobactéries, trouvées dans cette étude est proche d'une étude réalisée par **Cécile et al** en Cameroun durant 7ans (2005-2012) dans l'hôpital de Douala qui montre que les entérobactéries représentaient 71% de l'ensemble des germes isolés. D'autres travaux effectués en Maroc, Oran et Tlemcen sont en accord avec nos résultats, qui ont confirmé que malgré la récente croissance des Cocci à Gram positif, les bacilles à Gram négatif restent prédominants et représentent 40 à 80% des bactéries isolées (**Qassimi, 2010 ; Mesli, 2014 ; Dali, 2015**). Une autre étude sur les bactéries isolées des surfaces hospitalières comme le service pédiatrie confirme nos résultats ; ont trouvés que parmi 46,4% des cultures positives 41% étaient des bacilles Gram négatif aérobies strict, 19% étaient des entérobactéries et le reste étaient des Gram positif. (**Faye-Ketté et Dosso, 2010**).

Le seuil de positivité par site était de 3% pour le lavabo, 26% pour les lits et 5% pour les respirateurs (bouteilles d'O₂) ce qui est loin de l'étude de **Faye-Ketté et Dosso (2010)** qui ont trouvés des seuils de 85,5% pour les respirateurs, 61% pour les lavabos, 65,5% pour les lits. (**Faye-Ketté et Dosso, 2010**).

Dans notre travail, *Serratia marcescens* était le germe le plus abondant sur l'ensemble des souches d'un pourcentage de 47%, contrairement à une autre étude réalisée par **Lahlou et al** en Meknés qui ont montrés que parmi les entérobactéries nosocomiales l'espèce *Escherichia coli* domine le profil épidémiologique. (**Lahlou et al., 2009**).

Parmi les 38 souches d'entérobactéries isolées on a testé le profil d'antibiorésistance de 20 souches. L'évaluation de la résistance de ces derniers a indiqué une sensibilité totale de 9 souches (5 *E. coli*, 2 *klebsiella pneumoniae*, 1 *Serratia marcescens* et 1 *Hafnia alvei*) à tous les antibiotiques testés (Bêtalactamines, Aminosides, Quinolones, Polymyxines). Les résultats montrent aussi une sensibilité élevée de 5 souches à la plupart des antibiotiques testés on a ; 2 souches d'*E.coli* (la

première souche présente une résistance à la Colistine et la deuxième à l'Azétronam et Céfépime), 2souches de *k. pneumoniae* (l'une résistante à la Ticarcilline + acide clavulanique et Pipéracilline et l'autre seulement à la Ticarcilline +acide clavulanique) et une souche de *Serratia marcescens* sensible à tous les antibiotiques testés sauf la Céfépime. Ces résultats sont très encourageants pour le traitement des infections des entérobactéries spécialement en milieu hospitalier, mais on a toujours des souches à haute résistance marquées qui posent un problème majeur pour la santé et des grandes difficultés thérapeutique particulièrement dans l'antibiothérapie au niveau des hôpitaux algériens et dans le monde entier. (Van Duijn *et al.*, 2011

Dans la présente étude les entérobactéries isolées avaient une résistance faible aux Bêtalactamines. Une étude effectuée à Guelma en 2018, montrait des résultats contradictoires à celui trouvé dans notre étude. (Chefchoufi et Lamouri,2018)

Dans l'hôpital de Douala, Cécile *et al* en 2012 ont montrées que la Ciprofloxacine avait une bonne activité sur les souches d'entérobactéries ce qui est identique à nos résultats : la Ciprofloxacine a une très faible résistance de 6%. Et en Iran (2013), Hashemi *et al* retrouvaient des taux de résistance de l'ordre de 30% pour l'Amikacine. (Hashemi *et al.*,2013) contrairement à nos résultats qui montrent une absence totale de résistance des entérobactéries à l'Amikacine.

Pour les Céphalosporines, le taux de résistance de *E coli* a été très faible avec 6,25% pour la Ceftazidime (CAZ) et 12,5% pour Céfixime (CFM) et 18,75% pour la Céfépime (FEP). Moutachakkir (2014) a enregistré un taux de résistance faible aux Céphalosporines de 3 -ème génération de 21%, ce taux est analogique avec ce que nous avons trouvé. Dans les résultats de Cavallo (2000), une sensibilité de 100% d'*Escherichia coli* aux Céphalosporines de 3ème génération a été remarquée. Une absence totale de résistance à la Céfépime et la Ceftazidime a été détecté dans une autre étude (Faye-Ketté et Dosso, 2010).

La Tobramycine et la Ciprofloxacine ont présentés les taux les plus faibles (6,25%). Faye-Ketté et Dosso (2010) rapportent une sensibilité de 100% et Lahlou (2009) confirme nos résultats en indiquant que les Aminosides conservent une bonne activité sur *E. coli*.

Tandis que la Gentamycine (CN) présente une sensibilité totale et la Colistine (CT) présentent un taux très faible de résistance (6,25%). Ces résultats sont confirmés par une étude de **Moutachakir (2014)** qui ont enregistré un taux de résistance de 17%, et aucune résistance n'a été détectée à la Gentamycine par **Faye-Ketté et Dosso (2010)**. Par ailleurs, aucune résistance à la Nétilmicine et l'Amikacine n'a été enregistrée pour les souches d'*E. coli* isolées, soit une sensibilité de 100% restent les antibiotiques les plus actifs sur *Escherichia coli* avec un très faible taux de résistance.

Pour les Aminosides on note une résistance à 9 % de *K. pneumoniae* à la Tobramycine et une sensibilité totale à la Nétilmicine, Gentamycine, Amikacine et à la Colistine cependant **MezghaniMaalej** et son équipe ont constaté une résistance de cette espèce à la Colistine (60,2 %). (**MezghaniMaalej et al., 2012**) et **Faye-Ketté et Dosso (2010)** ont trouvé que *K. pneumoniae* résiste à la Gentamycine avec un taux de 31.3%. (**Faye-Ketté et Dosso, 2010**).

Pour les Céphalosporines et les Quinolones on a trouvé une très faible résistance de 9% de *K. pneumoniae* au Ciprofloxacine, au Ceftazidime et à la Céfépime, tandis que **Faye-Ketté et Dosso (2010)** ont constaté un faible taux de résistance à la Ciprofloxacine avec 18,8% et 12.5% pour la Céfépime et une absence de résistance à la Ceftazidime. (**Faye-Ketté et Dosso, 2010**).

Les souches isolées d'*Enterobacter aerogenes* présentent un taux de résistance de 13,6% aux Bêtalactamines (Céfépime, Ceftazidime, Céfixime), et une très faible résistance aux Quinolones (4,5% à la Ciprofloxacine), aux Aminosides (9% à la Tobramycine et une sensibilité totale à la Gentamycine, la Nétilmicine et l'Amikacine) et à la Colistine (33%).

Le travail de **Lyonga (2015)** qui a pour but d'étudier le profil de résistance des isolats d'entérobactéries, ont trouvé des résultats très proches concernant les Céphalosporines (Céfépime 20%). Par contre des résultats contradictoires concernant les Quinolones avec un taux de résistance de 30.8%. et les Aminosides (Gentamycine 46.7%) ont été trouvés par **Faye-Ketté et Dosso (2010)** (**Faye-Ketté et Dosso, 2010**). **Younes Talibi (2008)**, a montré des pourcentages de résistance qui concordent avec nos résultats, elles présentent une bonne efficacité à la Ciprofloxacine, à la Colistine et aux Aminosides sur une étude d'infections urinaires à l'hôpital ibn Sina. (**Younes Talibi, 2008**)

Conclusion

Conclusion

Au terme de notre étude réalisée, nous avons montré la présence de différentes espèces bactériennes d'entérobactéries isolées de différents sites de service pédiatrie.

L'analyse de différents prélèvements réalisait a permis d'isolée 38 souches d'entérobactéries qui représentent 59%. L'identification morphologique et biochimique de ces souches bactériennes a montré la prédominance de *Serratia marcescens* (47%) suivie par *E. coli* (24%), *K. pneumoniae* (13%), *Enterobacter aerogenes* (13%), et *Hafnia alvei* avec un faible pourcentage (3%).

Selon les résultats d'antibiogramme, parmi 20 souches testées ; 6 souches ont montré une résistance modérée des entérobactéries aux bêta-lactamines, une faible résistance aux Quinolones et Polymixines et presque une sensibilité totale aux Aminocyclitolides et 3 souches avec un phénotype de résistance BLSE.

L'évolution de résistance des entérobactéries aux antibiotiques est un phénomène réel dans l'Algérie. Il expose à des difficultés de prise en charge thérapeutique des infections. Leur large dissémination au niveau des hôpitaux semble être le reflet d'une utilisation inconsciente d'antibiotiques et l'absence d'une politique nationale de lutte contre les infections nosocomiales. La maîtrise actuelle de ce phénomène est une véritable urgence qui nécessite une implication des pouvoirs publics. La formation en hygiène hospitalière et la qualité de soins sont des éléments essentiels de prévention contre les infections nosocomiales, alors ces recommandations restent la mesure de base pour réduire l'incidence de ces infections.

On perspective notre travail mérite d'être complété par d'autres prélèvements dans des autres services et de toucher d'autres bactéries comme les Grams positifs. D'autres tests doivent être mis en place dans nos laboratoires afin de mettre en évidence les différents phénotypes de résistances.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbassi M S. (2010). *Escherichia coli* d'origine aviaire productrice de bêta-lactamases à spectre étendu en Tunisie : sur le chemin mondial de propagation des gènes blaCTXM. Thèse de doctorat : Sciences Vétérinaires. Tunisie : Université Degli Studi di Modena e Reggio Emilia.
- AKEL, Z. (2014). Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases isolées au CHU Ibn Sina-Rabat (Doctoral dissertation).
- Arnett, M. et Sinave, C.P. (2010). *Enterobacte Infections. Contributor Information and Disclosures. medicine infectious diseases. Editor Cunha, University of New York School of Medicine at Stony Brook.*
- Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (1992). *Enterobacteriaceae*. In : *bactériologie clinique. 2^e édition.* , Paris .p 149-196. ISBN 2-7298-9218-4.
- Aweille I. (2017). Détection des carbapénémases chez les entérobactéries. Thèse de doctorat : sciences pharmaceutiques. Université Toulouse Paul Sabatier , 140 p.
- Bauskraoui M. et al. (2017). *Guide pratique des bactéries pathogènes*. P : 16.
- Belkaid K ., (2014) . profil de virulence et de résistance au bêta-lactamine de souche clinique *Klebsiella pneumoniae* isolée de souche endotrachéale. Mémoire de master 2 : control de développement microbien. Université de telmcen , 42 p.
- Bonnet R. (2012). *Bêta -lactamines et entérobactéries*. Paris : ESKA16. P : 165 ; 88.
- Bossert I .D. Young L.Y. 1986. Anaerobic oxidation of paracresol by a denitrifying bacteriology of the coliform Group: their suitability as markers of microbial Water bacterium. *Applied and environmental Microbiology* 52(5):1117-1122.
- Bouguenoun, W. (2017). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie .p218 .
- Bush K, Jacoby A. (1995). A fonctionnal classification schème for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1211- 1233.
- Cavallo J. D., Péan Y. et Weber P. (2000). Facteurs influant sur la fréquence et sur le niveau de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* isolées au cours des infections urinaires chez les patients ambulatoires. *Médecine et maladies infectieuses*. Vol 30. P : 717 - 718.
- Cécile O, Martial D, Jean P, Guy P, Gérard B , Dieudonné A .(2012). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012.

Références bibliographiques

- Chefchoufi, H. et Lamouri, G. (2018). Ecologie bactérienne des infections nosocomiales : Surveillance de la flore de surface au niveau de service d'infectiologie de l'hôpital Ibn Zohr, mémoire : Microbiologie Appliquée Guelma ; Université 8 Mai 1945- Guelma. p95.
- Chemelle J. (2010). Etude par modification moléculaire de l'effet allergique des antibiotiques de la famille des β -Lactamases tant seul plan immédiat que retardé. Thèse de doctorat : science santé. Université de Lyon, 221 p.
- Cristian, C., Jacky, B., Eddy, S., Salavert, M., & Armand, T. (2008). Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. TEC & DOC Lavoisier, Paris, 76-86.
- Dali, A. (2015). Infections nosocomiales à bactéries multirésistantes (BMR) en réanimation adultes à l'EHUO: Profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. [Thèse]. Université d'Oran 1 Ahmed Benbella (Algérie). P197.
- DENIS F, PLOY MC, MARTIN C, BINGEN E, et QUENTIN R. Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS. 2007, p.335-401.
- FAYE-KETTÉ, H., & DOSSO, H. (2010). Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau tertiaire: exemple du CHU de Yopougon, Abidjan, Côte d'Ivoire. J. sci, 11(1-2010), 73-81.
- Faye A et Bingen, É. (2012). Place des infections nosocomiales en pédiatrie. Mt pédiatrie. Hôpital Robert-Debré, service de pédiatrie générale, 48, boulevard Sérurier, 75019 Paris. (3) : p11. Fraser, S.L.
- Freney, J., Leclercq, R., Renaud, F., & Riegel, P. (2007). Précis de bactériologie clinique. In Précis de bactériologie clinique (pp. 1779-1779).
- Gadou V. (2017). Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district D'Abidjan, Côte D'Ivoire. Thèse de doctorat en biologie fonctionnelle et moléculaire. Université Félix Houphouët Boigny. P : 31.
- Gangoue Pieboji J. (2007). Caractérisation des bêta-lactamases et inhibition par les plantes médicinales. Thèse de doctorat en biochimie. Université de Liège. P : 15.
- Gharout-Sait A. (2016). Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries Hospitalières et Communautaires. Thèse de doctorat. Bejaia, Algérie. Université A.MIRA. 195P.
- Grimont, P. A., & Grimont, F. (2015). Enterobacter. Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria, 1-17.
- Guide pratique sur : le contrôle des infections environnementales dans les hôpitaux. 2016. Biomerieux. 44p. www.biomerieux.fr.

Références bibliographiques

- Hashemi SH, Esna-Ashari F, Tavakoli S, et al. (2013). The prevalence of antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae strains isolated in community and Hospital acquired in infections in teaching hospital of Hamadan, west of Iran. *Journal of research in Health Sciences* ; 13(1) : 75–80.
- KHAYAR, Y. (2011). Comportement des enterobacteries isolees des urines vis-a-vis de l'amoxicilline–acide clavulanique l'imipeneme et l'ertapeneme (Doctoral dissertation).
- Khennouchi N. (2016). L'évaluation de l'antibiorésistance du germe entérobactérie aux antibiotiques. Thèses de doctorat : microbiologie appliquée université Annaba ;172 p.
- Konare S. (2018). Sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées en 2016 au laboratoire de biologie médicale et hygiène hospitalière du CHU du point G. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. P : 6 ; 12.
- Lagha N. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de laghouat. Thèse de Doctorat : Sciences. Tlemcen, Algérie : Université Abou bekr Belkaïd. 80 p.
- Lahlou Amine I. et al. (2009) : Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès. *Science direct*, Vol 11, Issue 2. P : 90-96.
- Larpent, J. P. (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne: les principaux groupes bactériens. Tec & Doc.
- Livermor DM. (1995). β -lactamases mediated resistance: past, present and future, *J. infect. Dis* ; 6 : 75-83.
- Lyonga E. et al. (2015). Resistance pattern of enterobacteriaceae isolates from urinary tract infections to selected quinolones in Yaoundé. *Pan African Medical Journal*. Vol 25. P : 105.
- Mamod A. (2016). Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération : quelles alternatives aux carbapénèmes. Mémoire du diplôme d'études spécialisées de pharmacie. Université de Poitiers. P : 19 ; 20 ; 21.
- Marco, L. (2007). Management de la santé, nouvelles perspectives, histoire et sciences de gestion France: Editions le Harmattan .p 15 -16.
- Martin D., et all., (2004). The prokaryotes .3eme edition, USA, Israel, Gemany,1193p.
- Materon I C, Beharry Z, Huang W et al. (2004). Analysis of the context dependent sequence requirements of active site residues in the metallo- β -lactamase IMP-1. *J. Mol. Biol*; 344: 653-663.

Références bibliographiques

- Meradi L, Djahoudi A, Abdi A et al. (2009). Résistance aux quinolones de types qnr, aac (60)-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie Biologie* ; 1-6.
- Mesli ,E.(2014). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*. [Thèse]. Tlemcen .Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen (Algérie). P94.
- Mezghani Maalej S, Rekik Meziou M, Mahjoubi F, Hammami A. « Épidémiologie de la résistance à la colistine chez les entérobactéries à Sfax (Tunisie) », *Masson, Sfax, Tunisie, Médecine et maladies infectieuses*. 2012, Vol 42 ; N°6 : P 256-263.
- Minor, L., & Véron, M. (1989). *Bactériologie médicale*, 2^{ème} Edition Flammarion Médecine-Sciences. Paris, 2, 428-432.
- Minor C, Richard C. (1993). *Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries*. Institut Pasteur, France.
- Mirabaurd M. (2003). *Entérobactéries et bêta lactamase à spectre élargi en pédiatrie*. Thèse de doctorat en médecine. Université de Genève.
- Mkaouar D, Mahjoubi F, Mezghani, et al. (2008). Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Méd mal infect* ; 38 : 293-298.
- Molitor A. (2010). *Régulation de la perméabilité membranaire chez les bactéries à Gram négatif et la relation avec la sensibilité aux antibiotiques*. Thèse de Doctorat : Marseille, France. Université de Médecine.
- Moutachakir M. et al. (2014). La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech. *Journal de pédiatrie et de puériculture*. Vol 28. P : 3.
- Nadmi H, Elotmani F, Talmi M, Zerouali K, et al. (2010). Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc). *Médecine et maladies infectieuses* ; 40(5), 303-305.
- Ndiaye A. (2005). *Les Entérobactéries sécrétrices de bêta –lactamases à spectre élargi*. Thèse de Doctorat en Pharmacie : Dakar, Sénégal. Université Cheikh Anta Aiop, 65p.
- Organisation mondiale de la santé (OMS). 2008. *Prévention des infections nosocomiales*. Guide pratique. 2^{ème} édition. 80p.
- Paulette C., Jaques C., Dominique., George D., colettes D., jean D., eveline F., claudine F., jean M. (1998). Résistance bactérienne aux bêta-lactamines .*M/S SYNTHÈSE* ,547-548.
- Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamzaoui SA. (2008). Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Méd mal infect* ; 38 : 324-327.

Références bibliographiques

- Qassimi, L. (2010). Épidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation (A propos de 147 cas). Thèse : pharmacie . Fès .Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Fès (Maroc). p148.
- Souma D. (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau de CHU de Sidi Belabbes. Mémoire de magister : biochimie appliquée. Université Aboubaker Belkaid Tlemcen, 126 p.
- Van, D.Dautzenberg, M.J. Oostdijk ,E.A. (2011). Recent trends in antibiotic resistance in European ICUs. *Curr. Opin. Crit. Care.*, (17) p:658–665.
- Ya Bi Foua Achille Roland M. (2006). Profil antibiotique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. P : 58.
- Yala D. et al. (2001). Résistance Bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. P : 13.
- Yassine K. (2011). Comportement des Entérobactéries isolées des urines vis-a-vis de l'amoxicilline – acide clavulanique, l'imipenème et l'ertapenème. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Rabat, Maroc. Université Mohammed V Rabat, 79p.
- Younes Talibi M. (2008). Infections urinaires à l'hôpital ibn Sina. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V. P : 100.

Annexes

Annexes

Annexe 01

Tableau : matériels, réactifs et milieux de culture utilisé.

Appareillage	Réactifs	Milieux de culture
<u>Appareils</u> ⇒ Autoclave 120°C. ⇒ Balance électrique de précision. ⇒ Etuve à 37°C. ⇒ Réfrigérateur. ⇒ Plaque chauffante. ⇒ Seringues stériles. ⇒ Bain- Marie. ⇒ Bec Bunsen. ⇒ Boîtes de Pétri. ⇒ Ecouvillons. ⇒ Pince. ⇒ Pied à coulisse. ⇒ Portoirs. ⇒ Anse de platine. ⇒ Parafilm. ⇒ Galeries biochimiques. ⇒ Solutions antiseptiques pour Désinfection (alcool, eau de Javel) ⇒ Agitateur.	⇒ Eau distillée stérile stérile. ⇒ Eau physiologique stérile. ⇒ Eau oxygénée. ⇒ Huile de paraffine stérile. ⇒ Les disques d'antibiotiques ⇒ Réactif de JAMES. ⇒ Réactif TDA. ⇒ Réactifs NIT1+NIT2	⇒ Gélose Mac Conkey (MC). ⇒ Gélose Mueller-Hinton (MH). ⇒ Gélose Eosine Bleu de Méthylène (EMB) ⇒ Bouillon nutritif.
<u>Verrerie</u> ⇒ Bêchers (1000 ml, 500 ml). ⇒ Flacons stériles 250 ml. ⇒ Lames ⇒ Pipettes Pasteur. ⇒ Tubes à essai.		

Composition des milieux de culture utilisés

L'eau physiologique

NaCl..... 9(g/l).

pH= 7,4

Milieu Mac Conkey

Peptone de caséine..... 17g.

Peptone de viande 03g.

Sels biliaries..... 01,5g.

Cristal violet..... 0,001g.

Lactose..... 10g.

Rouge neutre 0,03g.

NaCl..... 05g.

Agar..... 13,5g.

pH final = 7,1.

Composition gélose Mueller-Hinton (MH)

Hydrolysate acide de caséine (peptone)..... 17,5 g.

Extrait de viande 2,0 g.

Amidon 1,5 g.

Calcium..... 20 à 25 mg.

Magnésium..... 10 à 12,5 mg.

Agar..... 15,0 g.

pH = 7,4 +/- 0,2.

Composition gélose Eosine bleu de méthylène (EMB)

Peptone (quelconque).....	10 g.
Lactose	5 g.
Saccharose.....	5 g.
Hydrogénophosphate de potassium	2 g.
Éosinase Y.....	400 mg.
Bleu de méthylène.....	65 mg.
Agar.....	13,5 g.

pH 7,2 ± 0,2

Bouillon nutritif

Extrait de viande	01g.
Extrait de levure	02,5g.
Peptone.....	05g.
Chlorure de sodium.....	05g.

pH final =7,3.

Annexes

Annexe 02

Tableau : Lecture de la galerie biochimique API 10s.

<i>Tests</i>	<i>Composant actif</i>	<i>Réactions / Enzymes</i>	<i>Résultats</i>	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	β-galactosidase (Ortho-Nitrophenyl-β D-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
GLU	D-glucose	Fermentation / oxydation (Glucose)	Bleu / bleu-vert	Jaune / jaune-gris
ARA	L-arabinose	Fermentation / oxydation (Arabinose)	Bleu / bleu-vert	Jaune
LDC	L-lysine	Lysine Décarboxylase	Jaune	Rouge / orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine Décarboxylase	Jaune	Rouge / orangé
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du Citrate	Vert pâle / jaune	Bleu-vert / bleu
H2S	Sodium thiosulfate	Production d'H2S	Incolore / grisâtre	Dépôt noir / fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane Désaminase	TDA / immédiat Jaune	Marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'Indole	JAMES / immédiat Incolore	Vert pâle / jaune rose
OX	L'eau oxygéné (Test hors galerie)	Cytochrome-Oxydase	Absence des bulles d'air	Présence des bulles d'air
NO2	(Tube GLU)	Production de NO2	NIT 1 + NIT 2 / 2-5 min Jaune	Rouge

Annexes



Figure : Profil d'identification d'*Escherichia coli* (7730).



Figure : Profil d'identification de *Klebsiella pneumoniae* (7120).



Figure : Profil d'identification de *Serratia marcescens* (6720).



Figure : Profil d'identification de *Hafnia alvei* (6724).

Résumé

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif constituant l'une des plus importantes familles des bactéries. Certaines de ces bactéries sont pathogènes strictes et d'autres pathogènes opportunistes.

Ces bactéries sont de plus en plus résistantes aux antibiotiques. Cette résistance est un problème important en Algérie et est devenue une préoccupation clinique majeure, par conséquent la surveillance locale continue de la résistance aux antibiotiques est cruciale.

Cette étude vise à isoler et identifier les entérobactéries et déceler leurs résistances aux principales familles d'antibiotiques dans le service de pédiatrie de l'hôpital Mohamed Boudiaf de la ville de Bouira. Au total, 64 prélèvements de surfaces ont été effectués par la méthode d'écouvillonnage. L'identification a été effectuée par le système miniaturisé Api 10S. D'autre part, la détermination du profil de résistance de ses entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques testés a été réalisée selon CA-SFM (2018).

Une collection de 38 souches d'entérobactérie a été isolée, à savoir *Serratia marcescens*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, et *Hafnia alvei*. Les résultats de l'antibiogramme de ces espèces montrent une résistance moyenne aux β -lactamines suivie par la ciprofloxacine et la colistine et une sensibilité élevée aux aminosides, ainsi 3 souches avec un phénotype de résistance BLSE ont été montrées.

Finalement, il est indispensable d'implanter de strictes stratégies de lutte contre les infections nosocomiales et la résistance aux antibiotiques ainsi qu'un programme d'hygiène sévère dans les hôpitaux de Bouira et les hôpitaux Algériens afin de réduire la transmission croisée des germes multirésistants.

Mots clés : Environnement hospitalier, pédiatrie, entérobactéries, résistance.

Summary

Enterobacteriaceae are Gram-negative bacilli constituting one of the most important families of bacteria. Some of these bacteria are strict pathogens and other opportunistic pathogens.

These bacteria are increasingly resistant to antibiotics. This resistance is a significant problem in Algeria and it has become a major clinical concern, therefore continuous local surveillance of antibiotic resistance is crucial.

This study aims to isolate and identify *Enterobacteriaceae* and detect their resistance to the main families of antibiotics in the pediatric department of Mohamed Boudiaf hospital in the city of Bouira. A total of 64 surface samples were taken using the swab method. The identification was carried out by the miniaturized Api 10S system. On the other hand, the determination of the resistance profile of its *Enterobacteriaceae* towards the antibiotics tested was carried out according to the CA-SFM (2018).

Enterobacteriaceae strains was isolated, namely *Serratia marcescens*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, and *Hafnia alvei*. Antibiogram results for these species show moderate resistance to β -lactams followed by ciprofloxacin and colistin and high sensitivity to aminoglycosides, thus 3 strains with an ESBL resistance phenotype were shown.

Finally, it is essential to implement strict strategies to fight against nosocomial infections and resistance to antibiotics as well as a strict hygiene program in the hospitals of Bouira and the Algerian hospitals in order to reduce the cross-transmission of multi-resistant germs.

Keywords: Hospital environment, pediatric, *Enterobacteriaceae*, resistance.

ملخص

البكتيريا المعوية هي عصيات سالبة الجرام تشكل واحدة من أهم عائلات البكتيريا. بعض هذه البكتيريا مُمرضات صارمة والبعض الآخر مُمرضات انتهازية. تزداد مقاومة هذه البكتيريا للمضادات الحيوية. هذه المقاومة مشكلة كبيرة في الجزائر وأصبحت مصدر قلق سريري رئيسي، وبالتالي فإن المراقبة المحلية المستمرة لمقاومة المضادات الحيوية أمر بالغ الأهمية.

تهدف هذه الدراسة إلى عزل والتعرف على البكتيريا المعوية والكشف عن مقاومتها للعائلات الرئيسية للمضادات الحيوية في قسم الأطفال بمستشفى محمد بوضياف في مدينة البويرة. تم أخذ 64 عينة سطحية باستخدام طريقة المسحة. تم إجراء التحديد بواسطة نظام API 10S المصغر. من ناحية أخرى، تم تحديد خصائص مقاومة البكتيريا المعوية ضد المضادات الحيوية التي تم اختبارها وفقاً لـ CA-SFM (2018).

تم عزل مجموعة مكونة من 38 سلالة من البكتيريا المعوية وهي *Serratia marcescens*، *E. coli*، *K. pneumoniae*، *Enterobacter aerogenes*، و *Hafnia alvei*. أظهرت نتائج المضاد الحيوي لهذه الأنواع مقاومة متوسطة لـ β -lactams يليها ciprofloxacin و colistin وحساسية عالية لـ aminosides، وبالتالي تم عرض 3 سلالات ذات النمط الظاهري لمقاومة BLSE.

أخيراً، من الضروري تنفيذ استراتيجيات صارمة لمكافحة عدوى المستشفيات ومقاومة المضادات الحيوية بالإضافة إلى برنامج نظافة صارم في مستشفيات البويرة والمستشفيات الجزائرية من أجل الحد من انتقال الجراثيم المقاومة المتعددة.

الكلمات المفتاحية: بيئة المستشفى، طب الأطفال، البكتيريا المعوية، المقاومة.