



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

Référence /

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
BOURAS Nawal

Le : dimanche 24 juin 2018

Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées au laboratoire de l'EPH de Kolea (W. Tipaza)

Jury :

Dr.	GHITI Hassina	MCB	Université de Biskra	Président
Dr.	MOUSSI Abdelhamid	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
M.	BENAMOR Bilal	MAB	Université de Biskra	Examineur

Remerciements

Merci à Dieu

Le tout puissant qui nous a doté de volonté et de patience de courage et la détermination nécessaire pour finaliser ce travail de recherche qui compte tant pour notre avenir intellectuel et professionnel

*À notre encadreur monsieur **MOUSSI ABDELHAMID***

De votre enseignement brillant et précieux, nous gardons les meilleurs souvenirs. Nous sommes toujours impressionnées par vos qualités humaines et professionnelles.

Votre grand savoir scientifique, votre rigueur au travail, votre vision, font de vous le maître idéal et nous donne espoir et envie de nous battre.

Nous sommes honorés et très reconnaissant de vous avoir comme un encadreur de notre travail.

Veillez trouver ici, messieurs, l'expression de notre profond respect.

*Nous remercions encore le personnel et le chef de service de laboratoire d'EPH de KOLEA **Dr MECHRARA** qui nous a permis de réaliser notre stage au sein de son service.*

À notre Président du jury

Pour avoir accepté de présider le jury.

À notre Examineur

Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à ...

*L'éternel, **Dieu** tout puissant*

*Je dédie le fruit de mes 18 bougies d'études aux plus précieux
des trésors*

*Mes parents mon cher papa **Salah** et ma tendre
maman **Baya**.*

Qui m'ont appris tout ce que je sais

Qui m'ont guidé vers le tunnel éclairé du savoir

Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort

*Ma chère sœur **Narimane** que dieu la garde.*

*Mon petit frère **Abdenour** que dieu le protège.*

*A mon cher fiancé **Zakaria** et ma belle-mère qui ont
toujours été présent à mes côtés pour m'encourager et me
soutenir.*

*Mes chères grands-mères que Dieu vous bénisses et vous
gardes.*

*Mon cher grand père **Aoumeur** Allah yarahmou: J'aurai
voulu que vous soyez là aujourd'hui à partager ma joie.*

*A mes très chères amies **Lamia, Saida, Rofaida, Chorouk**.*

*A mes oncles, mes tantes surtout ma grande tante **Zahia** et son mari **Belaid**, mes cousins et cousines ... En reconnaissance de votre amour et de votre soutien moral, je vous exprime toute ma gratitude. Vos conseils avisés m'ont conduit jusqu'au bout de ce travail.*

*A toute la famille **BOURAS** et **BENSMAIL***

A toute la promotion de Microbiologie Appliquée

A toutes les personnes ayant consacré un moment pour m'aider, me conseiller, m'encourager ou simplement me sourire.

A tous mes professeurs dans tous les cycles de ma scolarité qui m'ont éclairé la voie du savoir.

Bouras Nawal

SOMMAIRE

Page de garde.....	I
Remerciements.....	II
Dédicace.....	III
Table de matière.....	V
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des figures.....	IX
Liste des abréviations.....	X
Introduction générale.....	1

Première partie : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. Les entérobactéries

1. <i>Escherichia coli</i>	3
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	4

Chapitre 2. Les antibiotiques

1. Les antibiotiques.....	5
1.1. Les β -lactamines.....	5
1.2. Les aminosides.....	6
1.3. Les quinolones.....	7

Chapitre 3. La résistance bactérienne

1. Définitions de la résistance aux antibiotiques.....	9
2. types de la résistance.....	9
2.1. La résistance naturelle.....	9
2.2. La résistance acquise	9
2.2.1. La résistance chromosomique.....	9
2.2.2. Résistance extra-chromosomique (plasmidiques).....	10
3. Les mécanismes de résistance bactérienne.....	10
3.1. Les mécanismes de la résistance acquise.....	11
3.1.1. Diminution de la perméabilité efflux actif.....	11
3.1.2. Modification de la cible des antibiotiques	11
3.1.3. Par inactivation enzymatique.....	11

Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 4. Matériel et méthodes

1. Lieu et période d'étude	13
2. Matériels	13
2.1. Matériel biologique.....	13
2.2. Matériel non biologique	13
3. Méthodes	13
3.1 .Prélèvements.....	13
3.2. Protocole expérimental.....	14
3.2.1. Analyse cyto bactériologique au laboratoire	14
3.2.1.1. Etude cytologique	14
a. L'examen macroscopique	14
b. L'examen microscopique	14
3.2.1.2. Mise en culture des produits pathologiques	16
a. Mise en culture des urines	16
b. Mise en culture des pus.....	17
c. Hémoculture.....	17
3.2.1.3. Identification biochimique des bactéries incriminées.....	17
a. Teste a l'oxydase	17
b. Teste de catalase.....	18
c. La galerie biochimique miniaturisée.. « le system API ».....	19
3.2.1.4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques « l'antibiogramme ».....	21

Chapitre 5. Résultats et discussion

1. Prélèvements	23
1.1. Distribution des souches isolées selon la source.....	23
1.2. Incidence des espèces isolées	23
1.3. Distribution des souches isolées selon le sexe.....	24
1.4. Distribution des souches isolées selon la nature de prélèvement.....	25
1.5. Répartition des souches isolées selon les services de l'hôpital.....	25
2. Identification des souches	26
2.1. Caractères morphologiques et culturales des souches d'entérobactéries isolées.....	26
2.1.1. Etude macroscopique	26
2.1.1.1. Croissance sur le milieu Hektoen.....	26

2.1.1.2. Croissance sur GN.....	27
2.1.2. Etude microscopique	27
2.1.2.1. Etat frais.....	27
2.1.2.2. Coloration de Gram.....	28
2.2. Identification biochimique.....	28
2.2.1. Test catalase.....	28
2.2.2. Test oxydase.....	28
2.2.3. Galeries biochimique miniaturisée API 20E.....	29
3. Résistance aux antibiotiques.....	31
3.1. Profil de résistance globale des entérobactéries isolées.....	31
3.2. Profil de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>Escherichia coli</i>	33
3.3. Profil de résistance aux antibiotiques des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	36
3.4. Comparaison des taux de résistance des souches d'entérobactéries (<i>E.coli</i> et <i>K.pneumoniae</i>) chez les patients hospitalisés et non hospitalisés.....	38
3.5. Evolution du nombre d' <i>Escherichia coli</i> et de <i>Klebsiella pneumoniae</i> résistants aux antibiotique.....	40
Conclusion	42
Bibliographie.....	44
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1. Origines structure chimique effet et spectre d'activité des principaux antibiotiques disponibles	8
Tableau 2. Résumé des résistances aux grandes familles d'antibiotiques.....	12
Tableau 3. Résultats des tests de catalase et d'oxydase des souches d'entérobactéries isolées.....	29
Tableau 4. Résultats de la galerie API 20 E d' <i>E.coli</i>	30
Tableau 5. Résultats de la galerie API 20 E de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	31

Liste des figures

Figure 1. Principaux mécanismes d'action des antibiotiques.....	5
Figure 2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	12
Figure 3. Les résultats de test d'oxydase.....	18
Figure 4. Les résultats de test catalase.....	19
Figure 5. Galerie API 20 E.....	20
Figure 6. Distribution des souches isolées selon la source	23
Figure 7. Incidence des espèces isolées.	24
Figure 8. Distribution des souches isolées selon le sexe	24
Figure 9. Distribution des souches isolées selon la nature de prélèvement.....	25
Figure 10. Répartition des souches isolées selon les services.....	26
Figure 11. Aspect des colonies d'entérobactérie sur milieu Hektoen.....	26
Figure 12. Aspect d' <i>Escherichia coli</i> sur GN.....	27
Figure 13. Aspect de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur GN.....	27
Figure 14. Coloration de Gram d'une souche d' <i>Escherichia coli</i> isolée G (× 100).....	28
Figure 15. Résultats de l'identification d'une souche d' <i>Escherichia coli</i> par la galerie API 20 E.....	29
Figure 16. Résultats de la galerie API 20 E d' <i>E.coli</i>	30
Figure 17. Résultats de l'identification d'une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> par la galerie API 20 E.....	30
Figure 18. Résultats de la galerie API 20E de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	30
Figure 19. Résultats de l'antibiogramme d'une souche d'entérobactérie isolée.....	31
Figure 20. Profil de résistance globale des Entérobactéries (<i>E.coli</i> et <i>K.pneumoniae</i>) isolées n=213.....	32
Figure 21. Profil de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>E.coli</i>	34
Figure 22. Profil de résistance aux antibiotiques des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
Figure 23. Comparaison des taux de résistance des souches d'entérobactéries (<i>E.coli</i> et <i>K.pneumoniae</i>) chez les patients hospitalisés et non hospitalisés.....	39
Figure 24. Evolution du nombre d' <i>Escherichia coli</i> et de <i>Klebsiella pneumoniae</i> résistants aux antibiotiques.....	40

Liste des abréviations

- ADH:** Arginine dihydrolase
- ADN :** Acide désoxyribonucléique.
- AMC :** Amoxicilline+acide clavulanique.
- AMX :** Amoxicilline.
- AMY:** Amygdaline.
- ARA:** Arabinose.
- ARNm :** Acide ribonucléique.
- BHIB :** Brain heart broth
- CIP :** Ciprofloxacine.
- CIT :** Citrate de sodium.
- CTR :** Céfotaxime.
- CZ :** Céfazoline.
- E.coli :*** *Escherichia coli*.
- EPH :** Etablissement public hospitalier.
- FOX :** Cefoxitine.
- GEL :** Gélatine de kohn.
- GLU :** Glucose.
- GM :** Gentamicine.
- GN :** Gélose nutritive.
- GSC :** Gélose au sang cuit.
- GSF :** Gélose au sang frais.
- H2S :** Thiosulfate de sodium.
- I :** Intermédiaire.
- IMP :** Imipenème.
- IND :** Indole.
- INO:** Inositol.
- K.pneumoniae :*** *Klebsiella pneumoniae* .
- LDC:** Lysine décarboxylase
- MAN:** Mannitol.
- MEL:** Melibiose.
- MH :** Gélose Mueller Hinton.
- NA :** Acide nalidixique.

ODC: Ornithine décarboxylase

OFX : Ofloxacin.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

ONPG: Orth-nitro-phenyl-galactoside.

PLP : Protéines liant les pénicillines.

R : Résistant.

RHA: Rhamnose.

S : Sensible.

SAC: Saccharose.

SOR: Sorbitol.

TDA : Tryptophane désaminase.

URE : Urée.

VP : Pyruvate de sodium.

Introduction

Les maladies infectieuses sont une préoccupation planétaire. Parmi les inquiétudes soulevées par cette problématique, la résistance des bactéries aux antibiotiques exige une attention particulière et nécessite la prise de mesures spécifiques.

La problématique de la résistance bactérienne prend des proportions alarmantes à l'échelle mondiale, induite par l'utilisation abusive et irrationnelle des antibiotiques en santé humaine et animale.

Elle est particulièrement retrouvée en milieu hospitalier, La complexité de l'environnement hospitalier fournit une quantité innombrable d'opportunités favorisant la rencontre entre le patient et le microorganisme, particulièrement des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques qui peuvent, dans certains cas, se répandre ensuite à l'extérieur de l'hôpital (Soussy, 2007).

A une époque où nous sommes confrontés à une menace continue des agents infectieux, il est essentiel de connaître ces agents, leur épidémiologie et les mécanismes de résistance développée pour une meilleure prise en charge des patients infectés et afin de diminuer la pression de sélection des bactéries multi résistances.

Les bacilles à Gram négatif ont manifesté vis-à-vis des antibiotiques un pouvoir d'adaptation de plus en plus grand qui a abouti à des problèmes thérapeutiques encore aigus. Les entérobactéries représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif responsable d'infections humaines graves. La concentration importante de ces germes dans le tube digestif, favorise l'échange et la dissémination des gènes de résistance (Seck, 2005).

L'émergence au sein des entérobactéries d'une résistance aux bêta-lactamines par le biais d'une sécrétion de bêta-lactamase n'est pas un phénomène nouveau, mais certaines caractéristiques des nouvelles enzymes confèrent aux germes une résistance à l'encontre de la plupart des bêta-lactamines, y compris des molécules récemment commercialisées, voire à l'encontre d'antibiotiques d'autres familles comme les aminosides et les fluoroquinolones (Seck, 2005).

Cette résistance bactérienne aux antibiotiques pose le problème de choix de l'antibiothérapie.

C'est dans ce contexte général que nous avons été amenés à entreprendre ce présent travail.

Dans la première partie de notre étude, nous nous proposons de faire des rappels bibliographiques concernant d'abord les bacilles à Gram négatif à savoir *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, puis sur les antibiotiques et sur la résistance bactérienne.

La deuxième partie est pratique et son but est de rechercher et d'étudier la résistance chez des souches bactériennes isolées à l'hôpital de Kolea wilaya de Tipaza et les objectifs de cette étude sont principalement:

- L'isolement et l'identification des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* au niveau du laboratoire de microbiologie de l'EPH;
- L'étude du profil de résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées vis-à-vis des antibiotiques;
- La comparaison des profils de résistance aux antimicrobiens des souches d'entérobactéries isolées des patients hospitalisés et ambulatoires.

Les entérobactéries constituent une famille hétérogène de bactéries Gram-négatif qui est fréquemment impliquée dans les infections humaines. Elle se compose d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces, mobiles par ciliature péritriche ou immobiles. Une de leurs caractéristiques est de réduire les nitrates en nitrites, et d'acidifier le glucose par voie fermentative avec souvent la production de gaz (Avril et al., 2000).

Les germes de cette famille sont en majorité pathogènes du tube digestif humain et d'autres sont des colonisateurs normaux de ce tube digestif (*Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*), bien qu'ils soient également présents dans l'environnement.

Dans le cadre de notre étude, les entérobactéries incriminées sont: (*E.coli*, *K.pneumoniae*). Pour cela, il semble nécessaire de rappeler brièvement quelques caractéristiques générales de ces bactéries et les types d'infections qu'elles génèrent.

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, isolée par Escherich en (1885), est l'espèce type du genre *Escherichia* qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae. C'est un bacille à Gram négatif, assez grand ($1-1.5 \times 2-6 \mu\text{m}$), aéro-anaérobie facultatif, oxydase négatif, nitrate positif et qui fermente le glucose (Farmer et al., 2007).

Les principaux caractères distincts d'*E. coli* vis-à-vis des autres entérobactéries sont : la fermentation du lactose, la production d'une β -galactosidase, la production d'indole à partir du tryptophane, l'absence d'uréase et l'absence d'utilisation du citrate (Simmons) comme source d'énergie et de carbone.

Concernant l'habitat, on trouve *Escherichia coli* en abondance dans la flore commensale, en particulier dans le tube digestif. Par ailleurs, elle est très répandue dans l'environnement : eau, sols, et dans les aliments (Baraduc et al., 2000).

Chez l'homme, la colonisation par *E. coli* est précoce, et peut être responsable d'un nombre varié de pathologie. Toutefois, trois types de syndromes majeurs résultent de l'infection par de souches *E. coli* pathogènes : infections urinaires (impliqué dans 80 % des infections urinaires), les infections digestives (diarrhées, infections hépatobiliaires et autres), les méningites néonatales et septicémies (Jaureguy, 2009).

2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est une entérobactérie qui appartient au genre *Klebsiella*. Il s'agit d'un bacille immobile, aéro-anaérobie, à Gram négatif, de 0.3 à 1.0µm de diamètre sur 0.6 à 6 µm de longueur (Abbott, 2007), se présentant de manière isolée, ou groupés par deux ou en courtes chaînes.

Ce sont des bactéries non sporulées, les colonies sont ronde, lisses bombées, brillantes, d'aspect muqueux ayant une oxydase négative, nitrate réductase positive, uréase positive, réaction de Voges-Proskauer positive (VP+) et qui fermente le glucose avec production de gaz (Janda et Abbott, 2006).

L'espèce *Klebsiella pneumoniae* est subdivisée en 3 sous espèces (*K. pneumoniae* subsp. *Pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *Ozaenae* et *K. pneumoniae* subsp. *Rhinoscleromatis*). C'est une espèce ubiquitaire, et fréquemment isolée de l'environnement (eaux usées, sol,...etc) et de la flore commensale du tube digestif et des voies respiratoires supérieures (Avril et al., 2000 ; Bagley et al., 1978).

Klebsiella pneumoniae est un germe opportuniste, responsable d'infections diverses : infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère, principalement chez les malades immunodéprimés, cancéreux, brûlés, cirrhotiques, diabétiques, chez les vieillards, nourrissons, nouveau-nés et prématurés (Sahly et al., 2004 ; Stone et al.,2003).

Il est responsable de plus de (10%) des infections nosocomiales (Chung et al., 1992 ; Podschun et Ullmann, 1998).

1. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont définis comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique (Lavigne, 2007), capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (Perronne, 1999).

Les antibiotiques peuvent être classés en se basant sur différents critères tels que leurs origines, leurs structures et leurs mécanismes d'action. L'action antibactérienne s'effectue selon quatre principaux mécanismes : une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi, un blocage de la synthèse des protéines, un blocage de la synthèse des acides nucléiques et une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique (Figure 01) (Fomba, 2006).

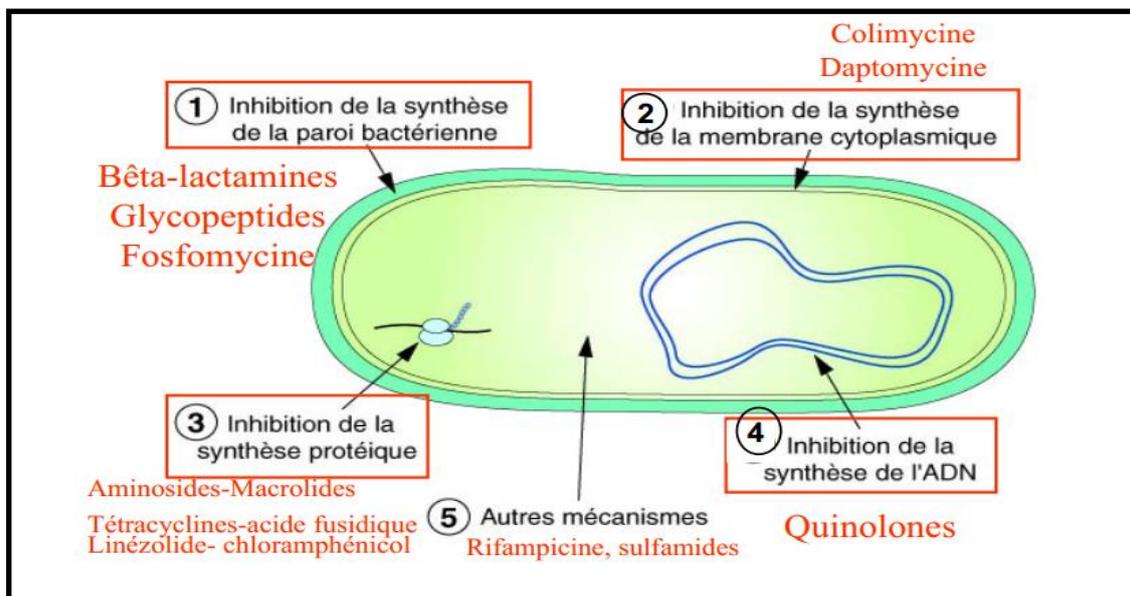


Figure 1. Principaux mécanismes d'action des antibiotiques (site web 01).

Il existe sept classes majeures d'antibiotiques bactériens utilisés en milieu clinique (voir annexe 01)

Les β -lactamines, les glycolipides, les aminoglycosides, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les sulfonamides (Nukaga et *al.*, 2003).

1.1. Les β -lactamines

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille comprend un grand

nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle β -lactame. Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides (Cavallo et *al.*, 2004).

Elles partagent une structure commune qui comprend de façon constante un cycle β -lactame et pour la plupart d'entre elles, un second cycle. Ainsi, en fonction des cycles et des chaînes latérales associées, on distingue (Chaabane et *al.*, 2009) :

➤ Les pénicillines : également appelées les pénames : les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β -lactame. Elles diffèrent par la nature de leur chaîne latérale (Nauciel, 2000) ;

➤ Les céphalosporines : constituées d'un noyau β -lactame associé à un noyau dihydrothiazine (Yala et *al.*, 2001) ;

➤ Les carbapénèmes : se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en (C2-C3), également présente sur les céphalosporines (Wolff et *al.*, 2009) ;

➤ Les monobactames : le noyau est limité au cycle β -lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle utilisé en clinique humaine (Chaabane et *al.*, 2009) ;

➤ Les clavames : leur représentant est l'acide clavulanique. Ces molécules sont des inhibiteurs β -lactamases, ayant une structure de pénicilline mais dépourvues d'activité antibiotique significative, ont la propriété de se lier à certaines β -lactamases et de les inhiber de manière irréversible (Perronne, 1999).

Les β -lactamines ont un mécanisme d'action identique, elles inhibent la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne en se fixant de façon covalente sur certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane, les empêchant ainsi d'assurer leurs fonctions (Cavallo et *al.*, 2004).

Ces enzymes sont situées sur la face externe de la membrane interne et sont nommées protéines liant les pénicillines ou PLP (Fauchère et Avril, 2002). Les PLP sont présentes en quantité variable (de 3 à plus de 8) selon les espèces bactériennes et présentent des affinités différentes pour chaque famille de β -lactamines (Fisher et Meroueh, 2005).

1.2. Les aminosides

Les aminosides sont des molécules polycationiques (Faure, 2009). Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et héli-synthétiques. Elles sont classées en fonction de la structure chimique centrale en trois classes : Streptomine, 2 désoxystreptomine et Streptidine.

Les aminosides perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne (Yala et *al.*, 2001). Ils se fixent sur les ribosomes et perturbent à leur niveau, la traduction des ARNm, par une altération conformationnel.

Il s'ensuit des erreurs de réception des messages et l'incorporation d'acides aminés différents avec formation de protéines défectueuses (Poisson, 1992).

1.3. Les quinolones

Les quinolones sont des agents antibactériens obtenus par synthèse chimique, dérivent de l'acide nalidixique (Page et *al.*, 1999). Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4 (Faure, 2008).

Les quinolones de première génération, dont le représentant est l'acide nalidixique, n'agissent que sur les bacilles à Gram négatif et elles sont utilisées dans le traitement des infections urinaires (Perronne, 1999). Actuellement de nouveaux composés de cette même famille d'antibiotiques ont été mis au point, dont certains additionnés d'un atome de fluor (norfloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine, ofloxacine...) possèdent une activité plus étendue et sont indiqués dans le traitement des infections systémiques et tissulaires à bacilles à Gram négatif et à cocci à Gram positif (Nordmann, 2006).

Après avoir pénétré à l'intérieure des cellules bactériennes par des protéines de perméabilité spécifique, ces molécules hydrophiles inhibent les topoisomérases de type II (ADN gyrase) et IV empêchant leur action dans le déroulement harmonieux de l'ADN qui est nécessaire à sa réplication (Nordmann, 2006). Ces molécules interagissent avec ce complexe ADN-ADNgyrase en formant un complexe ternaire ADN-ADNgyrase-quinolone. Elles bloquent le changement conformationnel de l'enzyme. Ainsi, l'ADN serait stabilisé au moment de la coupure et ne pourrait être religaturé (Mérens et Aurélie, 2010).

1. Définitions de la résistance aux antibiotiques

Une souche bactérienne est dite résistante quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée d'antibiotique (Faculte de Medecine, 2007).

Selon l'OMS : une souche résistante est une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce (Azerbaidjan, 2011).

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multi résistantes (Yala et *al.*, 2001).

La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (Yala et *al.*, 2001).

2. types de la résistance

2.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle, appelée aussi résistance intrinsèque, est une caractéristique propre d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Portée par le chromosome, elle est stable, et transmise à la descendance. Elle constitue un caractère d'identification des bactéries et détermine le phénotype « sauvage » des bactéries (Copyricht, 2012).

2.2. La résistance acquise

La résistance acquise ne concerne que certaines souches bactériennes au sein d'une espèce donnée. Variable dans le temps et dans l'espace, elle se propage de façon importante. Elle est portée par le chromosome, les plasmides, ou des éléments génétiques mobiles, permettant ainsi une transmission verticale à la descendance mais aussi une transmission horizontale, parfois entre espèces différentes. Elle détermine le phénotype de la résistance des bactéries et constitue un caractère épidémiologique.

Elle s'acquière soit par mutation sur un chromosome, soit par l'acquisition de gènes extra-chromosomiques (Copyricht, 2012).

2.2.1. La résistance chromosomique

La résistance chromosomique résulte d'une mutation chromosomique qui confère à la bactérie la possibilité de résister à un antibiotique. La mutation est un événement rare qui affecte une bactérie sur 10^7 à 10^9 . Elle est spontanée c'est-à-dire que l'antibiotique n'intervient que comme agent de sélection en éliminant les populations sensibles et en laissant subsister et croître les mutants résistants.

La mutation est un événement stable et héréditaire, car les bactéries filles ont les mêmes caractères de résistance que la bactérie parentale. Elle est spécifique, elle n'affecte qu'un seul antibiotique (Leclerc et *al.*, 1983) La rareté du phénomène explique sa faible importance en thérapeutique, puisqu'elle ne représente que (10 à 20%) des résistances observées.

2.2.2. Résistance extra-chromosomique (plasmidiques)

La résistance d'origine plasmidique est un phénomène d'une grande ampleur, car elle intéresse plusieurs antibiotiques majeurs et elle s'exerce dans (90%) des cas de résistance (Leclerc et *al.*, 1983). Elle résulte de l'acquisition par la bactérie de fragments d'ADN extra chromosomiques, les plasmides, qui ont la propriété de se répliquer indépendamment de l'ADN chromosomique et qui contiennent l'information génétique pour le mécanisme de résistance.

Le plasmide de résistance ou facteur (R) est constitué de deux unités : un déterminant de résistance qui possède l'information de résistance et un facteur de transfert de résistance qui contient l'information permettant de transférer cette résistance d'une bactérie à une autre. Ces déterminants de résistance peuvent eux-mêmes passer d'un plasmide à un autre, d'un plasmide à un chromosome ou réciproquement, grâce à des transposons, c'est-à-dire des séquences d'insertion.

La résistance est multiple, elle touche plusieurs antibiotiques et l'usage d'un seul antibiotique peut sélectionner des souches multi-résistantes. Elle est instable et réversible, car certaines bactéries peuvent perdre leurs plasmides de résistance.

3. Les mécanismes de résistance bactérienne

Les bactéries ont su développer des mécanismes divers et variés afin d'inhiber l'action des antibiotiques utilisés en thérapeutique.

La connaissance de ces mécanismes de résistance et leur compréhension doivent permettre une meilleure utilisation des antibiotiques. Le but est multiple :

- Permettre en premier lieu, d'être actif sur les bactéries impliquées dans les infections ;
- Limiter l'émergence des souches résistantes ;
- Éviter l'apparition de nouveaux mécanismes de résistance.

On peut à la suite, imaginer les principaux moyens dont disposent les bactéries pour résister aux antibiotiques (Gaudy et Buxeraud, 2005).

3.1. Les mécanismes de la résistance acquise

3.1.1. Diminution de la perméabilité efflux actif

La diminution de la perméabilité à l'antibiotique est due à des mutations affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie.

Quant à l'efflux actif, il repose sur une pompe insérée dans la membrane, elle est capable d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce à un canal, cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique (exemple : la fosfomycine et le système de transport des glycéro-phosphates) (Lozniewski et *al.*, 2010).

3.1.2 Modification de la cible des antibiotiques

Exemple : modification des PLP : les PLP ou « protéines liant les pénicillines » sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne) et qui sont la cible des bêta-lactamines (en se fixant aux PLP, les bêta-lactamines les empêchent de jouer leur rôle ; la synthèse du peptidoglycane est donc entravée). Trois mécanismes peuvent intervenir (Lozniewski et *al.*, 2010).

- Diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines (les bêta-lactamines ont du mal à se fixer aux PLP qui restent disponibles pour la synthèse du peptidoglycane) ;
- Augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta-lactamines ;
- Synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines (ex : *Staphylococcus aureus*: l'acquisition et l'intégration dans le chromosome d'un gène d'origine mal connue, induit la synthèse d'une nouvelle PLP, la PLP 2a qui est capable d'assurer à elle seule l'assemblage du peptidoglycane et elle confère une résistance à toutes les bêta-lactamines (Copyright, 2012).

3.1.3. Par inactivation enzymatique

Certaines bactéries vont produire des enzymes capables de modifier ou de détruire un antibiotique, conduisant à son inactivité. Les principales familles d'antibiotiques concernées sont les β -lactamines, les aminosides, la famille des macrolides et les phénicolés (Copyright, 2012).

Chez les entérobactéries, la production de β -lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines (Livermore, 2003).

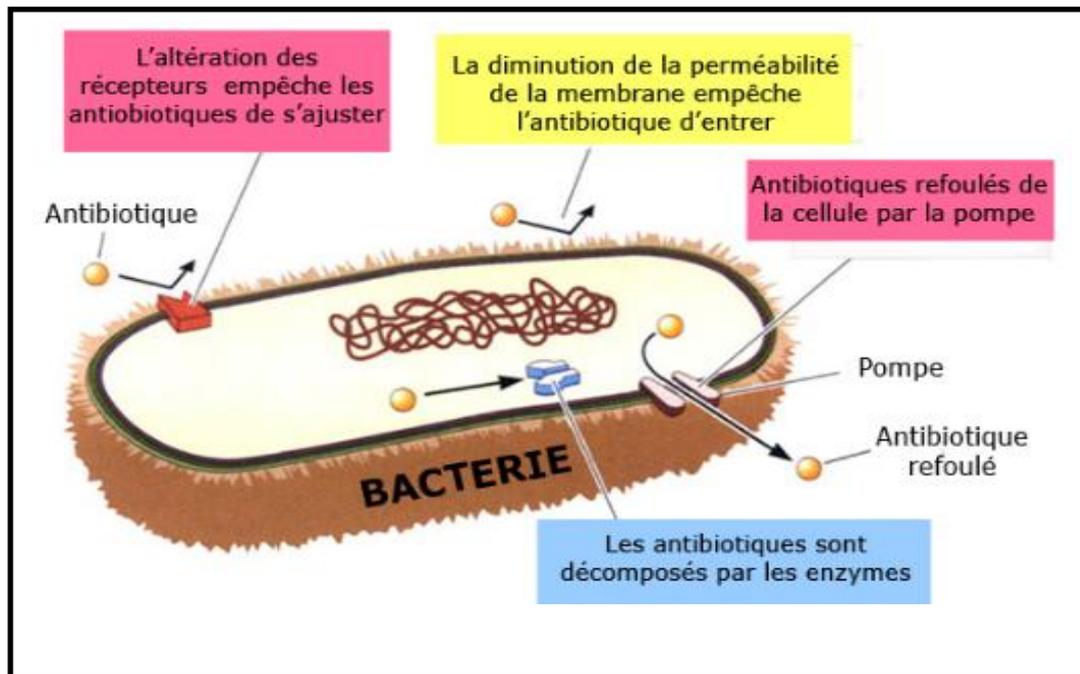


Figure 2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques (Site web 02).

Tableau 2. Résumé des résistances aux grandes familles d'antibiotiques. (Ndorma, 2012).

Antibiotiques	Résistance chromosomique	Résistance extra chromosomique
Aminosides	-Diminution de la perméabilité. -Modification de la cible (protéine S 12 de la sous-unité 30 S) .	-Inactivation enzymatique Par des acétyltransférases, des nucléotidyltransférases et des phosphotransférases.
β lactamines	-Diminution d'affinité des PLP	
Quinolones	-Diminution de la Perméabilité -Modification de la cible (gene gyrA,gyrB,parC).	-Efflux actif spécifique. -Inactivation enzymatique par des chloramphénicol acétyltransférases.

Le laboratoire de bactériologie a un rôle important dans le diagnostic des infections et dans le choix de l'antibiothérapie adaptée. En effet, l'identification des germes impliqués dans les infections et l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques sont la clef d'une antibiothérapie efficace.

Dans notre étude nous avons réalisé une étude rétrospective menée au laboratoire de biologie clinique sur des prélèvements à visée diagnostique, Elle a consisté en l'extraction à partir des registres des résultats de tous les antibiogrammes, Ces résultats comportaient, le numéro d'identification, le nom du patient, la date d'isolement, le germe identifié, la nature du prélèvement, ainsi que les antibiotiques testés avec leur profil de sensibilité (S,I,R), On signale que les résultats de la résistance «intermédiaire» ont été inclus dans la catégorie «résistant».

1. Lieu et période d'étude

Ce travail a été effectué à l'établissement public hospitalier (EPH) de Kolea Wilaya de Tipaza au niveau du laboratoire de microbiologie. La période de manipulation pratique au laboratoire s'est étalée sur trois mois allant de (janvier à mars 2018).

2. Matériels

2.1. Matériel biologique

- **Souches étudiées**

Au cours de la période de notre stage pratique un total de 61 souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* ont été isolées à partir des prélèvements pathologiques des malades hospitalisés dans les différents services et des malades ambulatoires.

Notre étude rétrospective a été réalisé sur une période de 15 mois à partir de (janvier 2017 jusqu'à mars 2018) et a porté sur 213 souches de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Escherichia coli*.

2.2. Matériel non biologique

Nous avons utilisé plusieurs matériels lors de notre étude: divers milieux de cultures, d'appareillage, des disques d'antibiotiques, des réactifs et des différentes solutions (voir annexe 02).

3. Méthodes

3.1. Prélèvements

Les prélèvements reçus provenaient des différents services de l'hôpital (médecine interne, chirurgie générale, réanimation, maladies infectieuses, urgences) et des traitants ambulatoires.

Ainsi on a reçu :

- Des prélèvements de pus (pus d'oreille, pus de plaie ...)
- Des prélèvements d'urines ;
- Des prélèvements de sang.

Les prélèvements ont été effectués par le personnel des services d'hospitalisation selon les techniques habituels tout en respectant les conditions d'asepsie.

- ✓ Les échantillons d'urine sont récupérés dans des flacons stériles et mis au réfrigérateur à (4°C) si l'analyse n'a pas lieu immédiatement ;
- ✓ En ce qui concerne les hémocultures : 5ml de sang sont prélevés pour l'enfant et 10ml pour l'adulte .Ce sang est inoculé dans un bouillon d'hémoculture (type de bouillon cœur, cerveau) ;
- ✓ L'analyse des pus ont été réalisés par écouvillonnage ou par ponction à la seringue.

Tous les prélèvements parvenus au laboratoire ont étéensemencés selon les techniques usuelles.

Chaque prélèvement reçus doit être accompagné d'une fiche de renseignement durement rempli (voir annexe 03).

3.2. Protocole expérimental

3.2.1. Analyse cyto bactériologique au laboratoire

3.2.1.1. Etude cytologique

a. L'examen macroscopique

Il permet de savoir l'aspect, l'odeur, la couleur et la turbidité du produit pathologique.

b. L'examen microscopique

Cet examen comprend :

➤ l'examen à l'état frais

La technique consiste à déposer quelques gouttes du produit pathologique sur une lame propre et recouvrir avec une lamelle puis observer au microscope optique grossissement (× 40) tous les éléments présents.

Cette méthode permet d'observer :

- La morphologie des bactéries ;
- Le mode de regroupement ;
- La mobilité.

Cet examen concerne tous les liquides pathologiques.

➤ la numération quantitative sur cellule de «Malassez»

Principe

Cette numération permet de visualiser tous les éléments présents dans les urines (hématies, leucocytes, cellules épithéliales, cristaux, bactéries, parasites, levures).

Technique

Une goutte d'urine fraîche est prélevée stérilement après une homogénéisation du tube à l'aide d'une pipette pasteur, pour une observation au microscope photonique grossissement $\times 40$.

Résultats

Le résultat est exprimé en nombre d'hématies ou leucocytes par mm^3 , ou on va calculer le nombre des leucocytes contenus dans une bande de la cellule «Malassez» puis on multiplie $\times 10$ bandes.

➤ l'examen après coloration

C'est une étape essentielle au diagnostic bactériologique et elle s'applique pour tous les produits pathologiques.

La préparation du frottis

Avant toute coloration, il faut réaliser un frotti, c'est-à-dire un étalement du produit pathologique ou des bactéries à identifier sur une lame.

La technique du frottis est simple prélever stérilement avec une pipette pasteur, quelques gouttes d'une suspension bactérienne ou du produit pathologique. La déposer sur une lame propre et dégraissée, puis l'étaler et laisser sécher devant le bec bunsen. Fixer la lame directement à la flamme puis réaliser la coloration.

• Coloration au bleu de méthylène

Cette coloration nous permet d'observer la forme des bactéries et typer la réaction inflammatoire.

Technique

- Inonder le frottis préparé et fixer au bleu de méthylène pendant 5 à 10 minutes ;
- Rincer la lame avec de l'eau ;
- Sécher la lame avec du papier buvard ou près du bec bunsen ;
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame et observer au microscope optique grossissement ($\times 100$).

• La coloration de Gram

Cette coloration est l'une des bases de classification bactérienne, elle permet de distinguer entre deux types de bactéries: bactéries Gram (+) et bactéries Gram(-) ; permet aussi de déterminer la morphologie des germes ainsi leur mode de regroupement.

Technique

- Réaliser un frottis et le fixer ;
- Coloration de base : recouvrir le frottis avec de **violet de Gentiane** durant une minute ;
- Rincer à l'eau de robinet ;
- Recouvrir la lame avec le **Lugol** pendant une minute (réactif iodo-ioduré qui accentue la coloration) ;
- Rincer à l'eau ;
- Décoloration avec de **l'alcool** pendant 30 secondes puis rincé à l'eau de robinet immédiatement ;
- Contre coloration : recouvrir le frottis avec de **la fushine**, laisser agir une minute ;
- Examiner au microscope optique au grossissement ($\times 100$) avec une goutte d'huile à immersion.

Lecture

- Bactéries colorées en violet \longrightarrow les bactéries à Gram(+)
- Bactéries colorées en rose \longrightarrow les bactéries à Gram (-)

3.2.1.2. Mise en culture des produits pathologiques

❖ Isolement et culture

Après l'examen microscopique, chaque prélèvement est cultivé sur des milieux destinés à favoriser la croissance d'une ou de plusieurs espèces bactériennes particulières.

Le but de cette étape est d'isoler les germes responsables d'infections.

Les ensemencements des prélèvements traités sont réalisés à la surface des milieux de cultures en boîte de pétri, le plus souvent en étalant l'inoculum avec une pipette pasteur selon la méthode des stries.

Le choix des milieux est guidé par le type de germe recherché, car chaque milieu de culture est spécifique pour une famille bactérienne.

a. Mise en culture des urines

Un diagramme récapitulatif de l'examen cyto bactériologique des urines (voir annexe 04).

Technique

Devant la flamme du bec bunsen (zone stérile) après l'homogénéisation du tube une quantité d'urine est prise par une pipette menée d'une poire.

On réalise une dilution ou 0,1ml (2 gouttes) d'urine bien mélangée est diluée dans 10 ml d'eau physiologique, par une pipette pasteur (2 gouttes) de cette dilution sont prises et aussitôt étalées sur une gélose nutritive avec un râteau préalablement stérilisé, Dilution finale = 10^{-3} .

Les milieux ainsi ensemencés sont incubés à (37°C) pendant 24h, après l'apparition d'une poussée de bactéries on procède à l'identification des bactéries incriminées.

b. Mise en culture des pus

Un diagramme récapitulatif de l'examen cyto bactériologique des pus (voir annexe 05).

Les prélèvements sont mis généralement dans un milieu de pré-enrichissement dans des tubes contenant un milieu BHIB (Bouillon cœur –cervelle) et seront incubés à (37°C) pendant 2h afin de favoriser la multiplication rapide des bactéries.

Les prélèvements sont alors ensemencés ou frottés à l'aide de l'écouvillon dans les 5 milieux suivants.

Gélose nutritive, Gélose Chapman, Gélose au sang frais, Gélose au sang cuit, Gélose Hektoen (isolement des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatifs).

Les milieux sont incubés à (37°C) pendant 24h, la gélose au sang frais (GSF) et au sang cuit (GSC) sont incubées dans une atmosphère enrichie en CO² (Dans une jarre avec une bougie). Après l'apparition d'une poussée de bactéries on procède à l'identification des bactéries incriminées.

c. Hémoculture

Un diagramme récapitulatif des principales étapes de traitement des flacons d'hémoculture (voir annexe 06).

Les flacons d'hémoculture sont incubés à l'étuve à (37°C), puis sont examinés quotidiennement pour la recherche des critères de positivité (un trouble, une décoloration, une hémolyse ou une formation discrète de gaz dans le bouillon), ceci dit des repiquages systématiques sont effectués après 24h, 5j et 10 j d'incubation.

On utilise pour la culture une GSC et GSF qu'on incube 24h à (37°C) sous CO².

Devant ou après toute culture positive une identification est nécessaire.

3.2.1.3. Identification biochimique des bactéries incriminées

a. Teste à l'oxydase

La recherche de la phénylène-diamine oxydase est le caractère de la différenciation entre les entérobactéries et les autres familles de bacilles à Gram négative non fermentant.

Principe

Le réactif utilisé est le chlorhydrate ou l'oxalate de N-diméthyle para-phénylène-diamine (PDA).

On peut utiliser ce réactif en solution mais le plus souvent on utilise des disques imprégnés de ce réactif.

Le diméthyle para-phényle-diamine est incolore, sous l'action de cytochrome oxydase, il est oxydé en une dérive colorée en rose violacée.

Technique

Sur une lame on met un disque d'oxydase et à l'aide d'une pipette pasteur on ajoute une culture bactérienne âgée de 24 h.

Remarque

Ne pas utiliser une anse en fer, car le contenu des disques peut oxyder le fer et donner des résultats faux.

Lecture et interprétation

- La réaction est instantanée, l'apparition en 10 à 30 sec d'une couleur allant du violet à pourpre cela indique une réaction positive, donc la bactérie est oxydase (+) ;
- La réaction tardive ou l'absence de la couleur indique un test négatif, donc la bactérie est oxydase (-).



Figure 3. Les résultats de test d'oxydase.

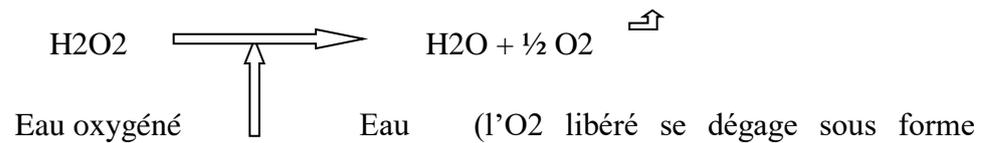
b. Teste de catalase

Test de la catalase peut être utilisé comme une aide à l'identification des entérobactéries.

Les membres de la famille des entérobactéries sont catalase positive.

Principe

La catalase est une enzyme respiratoire présente chez les bactéries qui ont un métabolisme oxydatif, elle empêche l'accumulation d'eau oxygénée (produit toxique pour les bactéries anaérobies) le métabolisme se fait selon la réaction suivante :



Catalase

Technique

Elle consiste à déposer sur une lame propre une goutte d'eau oxygénée, puis avec une pipette pasteur, on prélève d'une gélose nutritive une colonie bactérienne âgée de 24h. On met la colonie sur lame.

Lecture et interprétation

- un dégagement de bulle de gaz indique la présence d'une catalase ;
- Absence de bulle d'air, la bactérie est catalase (-).



Figure 4. Les résultats de test catalase.

c. La galerie biochimique miniaturisée « le system API »

L'API est un système standardisé pour l'identification des bactéries selon les caractères biochimiques.

➤ La galerie API 20E

C'est un système standardisé pour l'identification des Entérobactéries et autre bacilles à Gram négatif.



Figure 5. Galerie API 20 E.

Principe

- La galerie API 20E comporte 20 micro tubes contenant des substrats sous forme déshydratée ;
- Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux ;
- Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanées 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 (voir annexe 07).

Technique

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

Faire une suspension bactérienne dans un tube d'eau distillée stérile (5ml) avec quelques colonies bien isolées prélevée par une pipette pasteur sur le milieu gélosé.

Inoculation de la galerie

- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne ;

- Remplir uniquement les tubes des autres tests ;
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de vaseline ;
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à (35-37°C) pendant 18 à 24 heures.

Lecture

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture ;

Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées ou révélées par l'addition des réactifs.

Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.

Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs.

On obtient :

Exemple : 4144532 \longrightarrow Escherichia coli

3.2.1.4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques « l'antibiogramme »

Après l'identification biochimique de la bactérie isolée, l'étape finale de l'identification du groupe pathogène isolé, consiste à déterminer l'antibiogramme qui permet de déterminer les caractères de sensibilité ou de résistance aux différentes familles d'antibiotiques (au moins un représentant de chaque famille).

Nous avons testé la sensibilité des souches identifiées vis-à-vis différents antibiotiques, par la méthode de l'antibiogramme standard, par diffusion sur gélose Mueller Hinton(MH).

Les antibiotiques testés.

β - lactamines

-Amoxicilline(AMX) (25 μ g), Amoxicilline-acide-clavulanique(AMC) (30 μ g), Cefoxitine(FOX) (30 μ g), Cefazoline(CZ) (30 μ g), Céfotaxime(CTX) (30 μ g), Imipénème (IPM) (10 μ g).

Aminosides

-Gentamicine(G) (15 μ g).

Quinolones

-Acide nalidixique(NA) (30 μ g), Ciprofloxacine (CIP) (5 μ g), Ofloxacine (OFX) (5 μ g).

Technique

Comme pour les tests biochimiques, l'antibiogramme doit se faire à partir d'une souche bactérienne pure et jeune de 18h à 24h.

- Préparer une suspension bactérienne, dans un tube d'eau physiologique stérile (5ml) avec quelques colonies bien isolée et parfaitement identiques. Prélevée par une pipette pasteur sur le milieu gélosé ;
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant sur 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°C) à chaque fois ;
- passer l'écouvillon sur les bords de la gélose ;
- Dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois, (standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS) ;
- Déposer le disque imprégné d'antibiotique à la surface de la gélose à l'aide d'un distributeur pour antibiogramme, ou d'une pince stérile ;
- Incuber à (37°C) pendant 24h.

Lecture

Mesurer le différent diamètre en (mm) de chaque zone d'inhibition avec un pied à coulisse puis faire une comparaison avec les diamètres critiques de chaque ATB des germes isolés en (voir annexe 08).

- Si le diamètre de la souche bactérienne est supérieur au diamètre critique, la bactérie est dite sensible ;
- Si le diamètre de la souche bactérienne est inférieur au diamètre critique, la bactérie est dite résistante.

1. Prélèvements

Durant la période de notre étude, 213 souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* ont été colligés: 86 hospitalières et 127 communautaires (externes).

1.1. Distribution des souches isolées selon la source

Dans notre étude, l'effectif des patients externes est plus important que celui des patients hospitalisés, (59,62%) contre (40,38%), donc il y'a une prédominance des souches communautaires par rapport aux souches hospitalières (Figure 06).

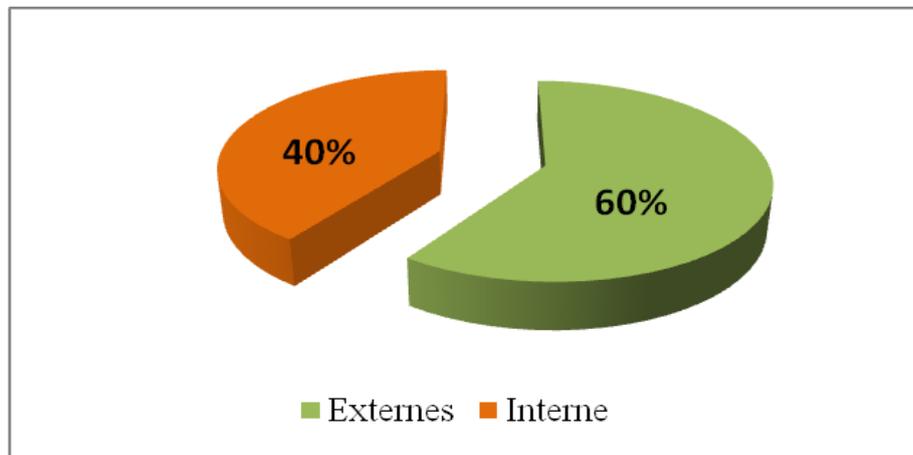


Figure 6. Distribution des souches isolées selon la source n=213

1.2. Incidence des espèces isolées

La fréquence d'occurrences des micro-organismes mis en cause dans les infections chez la population étudiée (Figure 07) marque une prédominance d'*Escherichia coli* avec un taux de (70,89 %) suivi de *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de (29,11%).

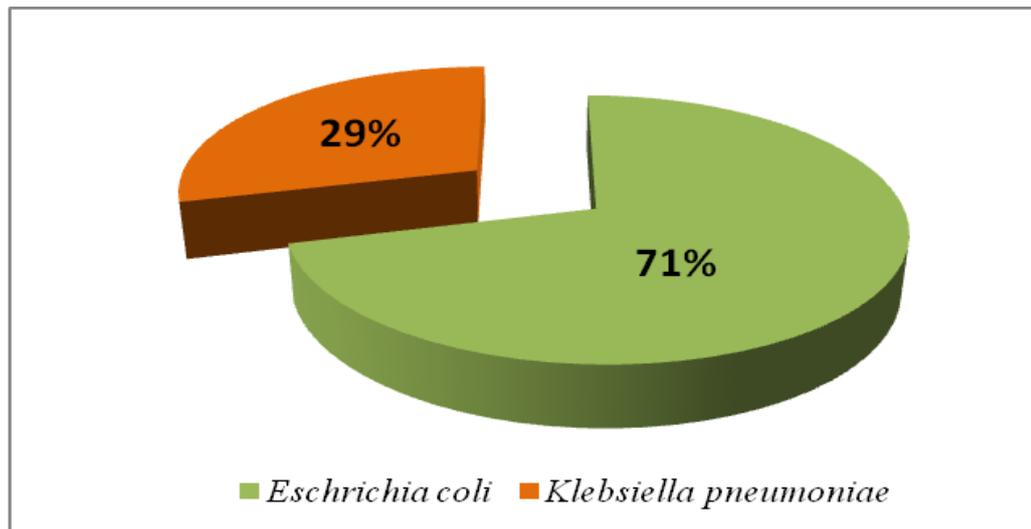


Figure 7. Incidence des espèces isolées.

1.3. Distribution des souches isolées selon le sexe

Parmi les 213 souches isolées (60,56%) proviennent de sexe féminin et (39,44%) de sexe masculin, on peut remarquer une nette prédominance des souches isolées chez les femmes par rapport à celle des hommes.

La figure 08 montre une prédominance des souches *d'Escherichia coli* chez le sexe féminin avec une fréquence de (62,91%) contre (37,09%) chez le sexe masculin, suivie par *Klebsiella pneumoniae* avec (54,84%) chez le sexe féminin contre (45,16 %) chez le sexe masculin.

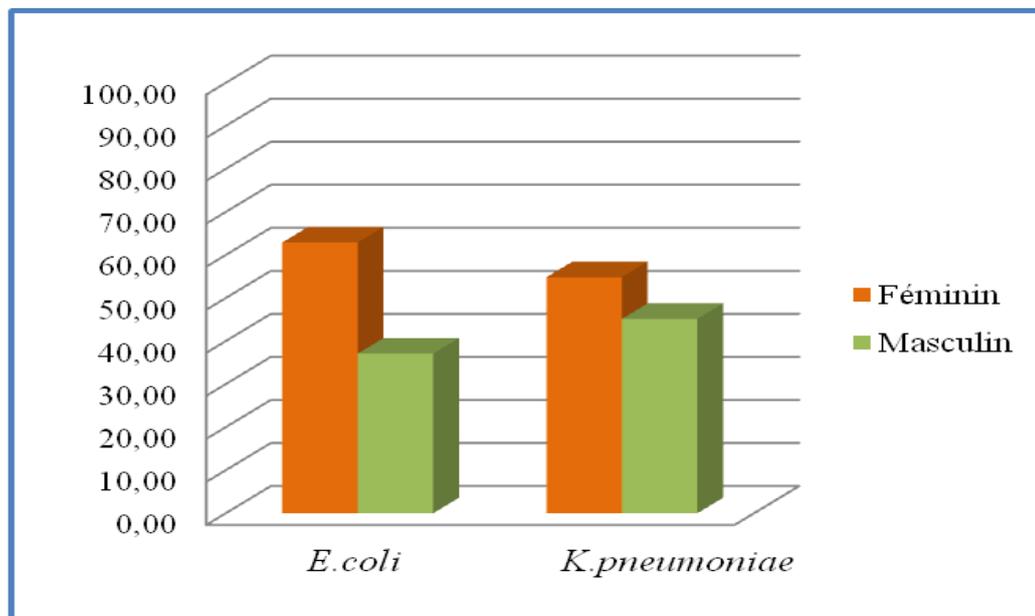


Figure 8. Distribution des souches isolées selon le sexe n=213.

La prédominance des souches *d'Escherichia coli* chez le sexe féminin par rapport au sexe masculin car les femmes son beaucoup plus touchée par les infections urinaires à *Escherichia*

coli à cause de l'anatomie de leur appareil urinaire, des rapports sexuelles et des cycles menstruelles.

1.4. Distribution des souches isolées selon la nature de prélèvement

Dans la présente étude, le site montrant le plus fort pourcentage de contamination est les urines (ECBU) avec un taux de (73,71%), suivi par les prélèvements de pus superficiel ou profond (19,72%), en dernière position les hémocultures avec (6,57%) (Figure09).

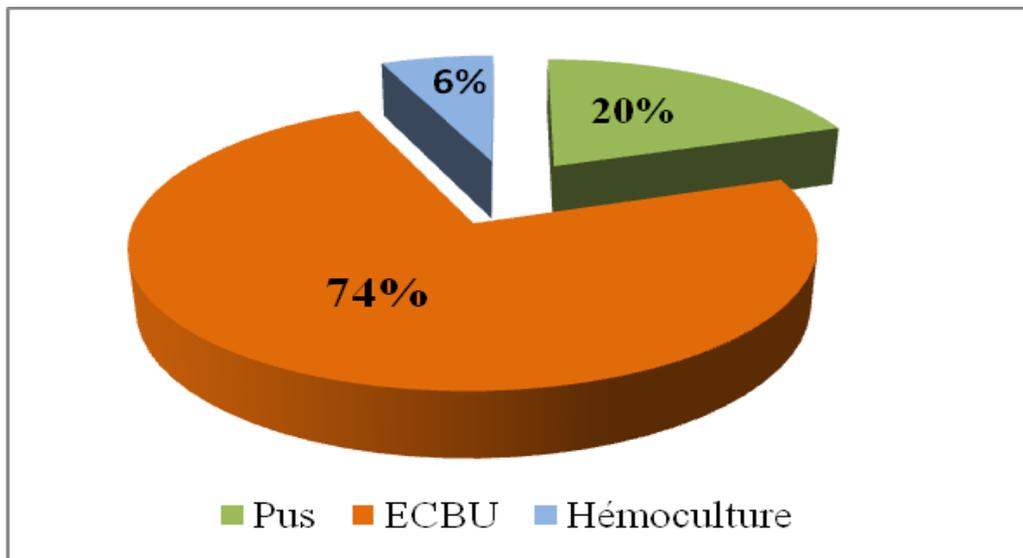


Figure 9. Distribution des souches isolées selon la nature de prélèvement n=213.

1.5. Répartition des souches isolées selon les services de l'hôpital

Les internes sont répartis sur les services (médecine interne, chirurgie générale, réanimation, maladies infectieuses, néphrologie et les urgences) de l'EPH Kolea.

La répartition des souches isolées montrent que le service le plus contaminé est celui des maladies infectieuses avec (34,88%) suivi par le service de médecine interne (18,60%), service de chirurgie générale (16,28%), service de réanimation (12,79%), les urgences (10,47%) et en dernière position service de néphrologie (6,98%) (Figure10).

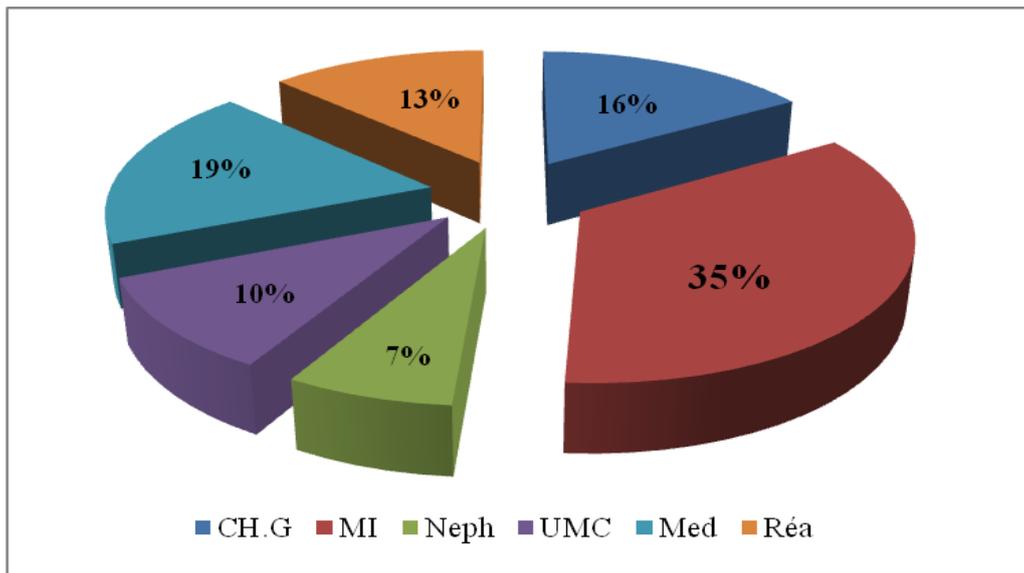


Figure 10. Répartition des souches isolées selon les services.

2. Identification des souches

2.1. Caractères morphologiques et culturales des souches d'entérobactéries isolées

2.1.1. Etude macroscopique

2.1.1.1. Croissance sur le milieu Hektoen

L'aspect des colonies sur milieu Hektoen au bout de 24h d'incubation à (37°C), est en relation de la capacité des microorganismes à fermenter le lactose mis dans le milieu. Cela conduit à une production d'acide qui abaisse le pH et modifie l'indicateur de pH placé dans le milieu qui vire du vert au jaune-orangé, donc nos souches sont lactose positif. Les colonies présentant cet aspect macroscopique est une caractéristique de la famille des Enterobacteriaceae.



Figure 11. Aspect des colonies d'entérobactérie sur milieu Hektoen.

2.1.1.2. Croissance sur GN

- *Escherichia coli* apparait en colonies de 1 à 3 mm de diamètre généralement bombées, lisses et brillantes, opaques et blanchâtre.



Figure 12. Aspect d'*Escherichia coli* sur GN.

- *Klebsiella pneumoniae* apparait en colonies de 3 à 4 mm de diamètre bombés, large, luisantes d'aspect muqueux.



Figure 13. Aspect de *Klebsiella pneumoniae* sur GN.

2.1.2. Etude microscopique

2.1.2.1 Etat frais

L'observation microscopique montre que :

- *Escherichia coli* se présente sous forme de bacilles droit forme de bâtonnet, mobile.
- *Klebsiella pneumoniae* donne des bacilles courts, immobile.

2.1.2.2. Coloration de Gram

L'examen microscopique après coloration différentielle de Gram pour les souches isolées d'une culture jeune (18 à 24 heures d'incubation) à révéler, la présence de fins bacilles à Gram négatif colorés en rose.



Figure 14. Coloration de Gram d'une souche d'*Escherichia coli* isolée G ($\times 100$).

2.2. Identification biochimique

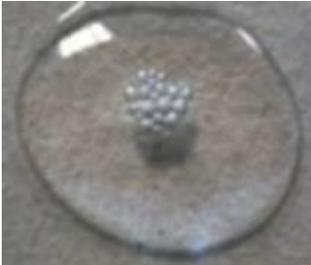
2.2.1. Test catalase

Toutes les bactéries isolées, testées pour la production d'une catalase, ont décomposé l'eau oxygénée en eau et en oxygène qui se dégage. Ce qui se traduit par le dégagement des bulles de gaz.

2.2.2. Test oxydase

Toutes les bactéries isolées étaient dépourvues d'oxydase, il n'y a pas eu de coloration rose-violette donc elles sont oxydase négative.

Tableau 3. Résultats des tests de catalase et d'oxydase des souches d'entérobactéries isolées.

Espèces	Résultats test de catalase	Résultats test d'oxydase
<i>Escherichia coli</i>	Catalase positive 	Oxydase négative 
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		

2.2.3. Galeries biochimique miniaturisée API 20E

L'identification des souches isolées a été faite à l'aide de la galerie API 20E, qui nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Escherichia coli*.

- Résultats de la galerie API 20 E



Figure15. Résultats de l'identification d'une souche d'*Escherichia coli* par la galerie API 20E.



Figure 16. Résultats de la galerie API 20 E d'*E.coli*.

Tableau 4. Résultats de la galerie API 20 E d'*E.coli*.

sub stra	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>E. coli</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+



Figure 17. Résultats de l'identification d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* par la galerie API 20 E.

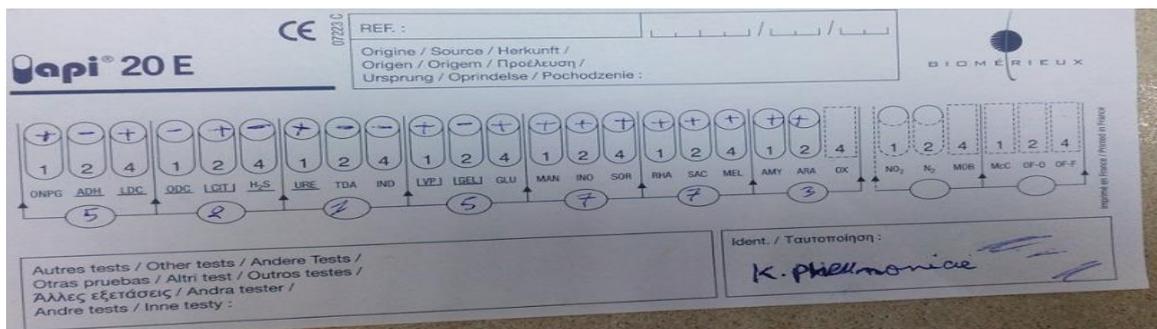


Figure 18. Résultats de la galerie API 20E de *K. pneumoniae*.

Tableau 5. Résultats de la galerie API 20 E de *K. pneumoniae*.

Substrat	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>K.P.</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

3. Résistance aux antibiotiques

Toutes les souches identifiées ont été testées pour leur sensibilité aux antibiotiques par la méthode d'antibiogramme, et ils ont été testés vis-à-vis 10 molécules d'antibiotiques appartenant à des familles différentes dont les β -lactamines, les aminosides et les quinolones.



Figure 19. Résultats de l'antibiogramme d'une souche d'entérobactérie isolée.

3.1. Profil de résistance globale des entérobactéries (*E.coli* et *K.pneumoniae*) isolées

La résistance aux antibiotiques des entérobactéries (*E.coli* et *K.pneumoniae*) isolées est représentée dans la figure ci-dessous (Figure 20)

- **Résistance aux β -lactamines**

La résistance aux aminopénicillines est élevée (88,73%), en présence d'acide clavulanique, cette résistance baisse pour atteindre le taux de (64,79%).

Le taux de résistance pour la céfazoline(CZ) est de (97,18%), (5,16%) pour l'imipénème (IPM), (30,05%) pour céfotaxime(CTX), et un taux de (8,45%) pour cefoxitine(FOX).

- **Résistance aux quinolones**

Le taux de résistance est de (27,70%) pour l'acide nalidixique (NA), (27,23%) pour ciprofloxacine(CIP), et de (23%) pour l'ofloxacine(OFX).

- **Résistance aux aminosides**

Le taux de résistance à la gentamicine(GM) est de (15,96%).

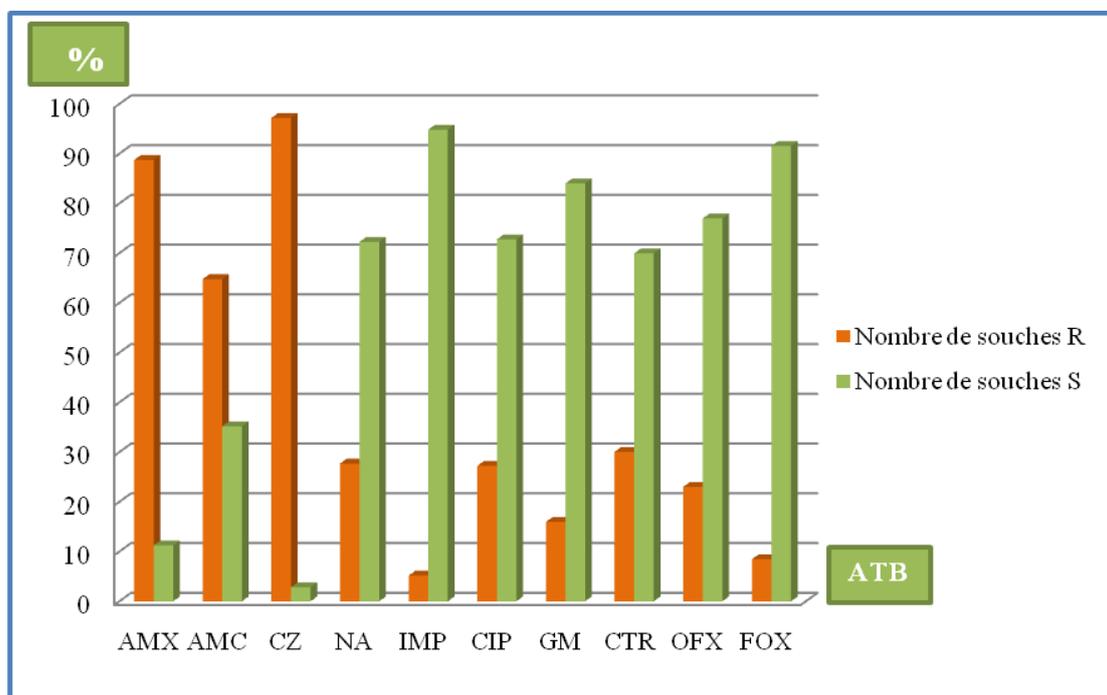


Figure 20. Profil de résistance globale des entérobactéries (*E.coli* et *K.pneumoniae*) isolées n=213.

Discussion

- **Béta -lactamines**

Dans notre étude le pourcentage de résistance aux β -lactamines des souches isolées est élevé, une résistance de (88,73%) est enregistrée pour : l'amoxicilline ce résultat se rapproche de celui rapporté par Pieboji *et al.* (2004) au Cameroun avec un taux de (85%), mais élevé par rapport à celui d'une étude tunisienne rapportée par Thabet *et al.* (2010) ou la fréquence est de (71%).

L'effet inhibiteur de l'association amoxicilline + acide clavulanique des β -lactamines à été remarqué pour nos souches (la résistance a baissé pour atteindre le taux de (64,79%)), Ce résultat est inférieur à celui rapporté par Yanat *et al.* (2008) à Bejaia avec un taux de (88,37%).

L'imipénème demeure actif sur les entérobactéries isolées avec un taux de (5,16%) de résistance. Cette tendance à également été retrouvée en Espagne par Guembe *et al.* (2008) avec un taux de (3,5%), Par contre Hashemi *et al.* (2013) retrouvaient un taux de résistance plus élevés (19%) pour l'imipénème.

Dans notre étude, l'imipénème (carbapénèmes) est l'antibiotique le plus efficace in vitro, résultat identique à celui rapporté par Guembe *et al.* (2008).

(30,05%) de résistance aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime) a été observée. Alors que les résultats de l'étude rapporté par Hashemi *et al.* (2013) ont montré un taux de résistance de (25%).

Presque toutes les souches isolées sont résistantes à la céfazoline (97,18%), Ces résultats sont plus élevés de ceux rapportés par Cécile *et al.* (2015) au Cameroun avec un taux de (30,6%).

La céfoxitine présente une bonne activité sur les souches d'entérobactéries isolées avec une résistance de (8,45%).

- **Les aminosides**

La gentamicine est peu active avec un taux de résistance (15,96%), mais globalement, les entérobactéries isolées restent sensible à cette molécule, ce qui la qualifie comme bon élément d'antibiothérapie. Cette observation est inférieure à celle enregistrée par Benhadj Khalifa et Khadher (2010) en Tunisie ou la résistance est égale à (40,60%).

- **Les quinolones**

Fluoroquinolones sont peu actif sur les souches d'entérobactéries isolées avec un taux de résistance (27,23%) pour la ciprofloxacine, et de (23%) pour l'ofloxacine. Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Guembe *et al.* (2008) en Espagne avec des taux de résistances très élevés (76,3%) pour la ciprofloxacine, et de (84,8%) pour l'ofloxacine.

3.2. Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*

La résistance aux antibiotiques des 151 souches d'*Escherichia coli* isolées est représentée dans la figure ci-dessous (Figure 21).

- **Résistance aux β -lactamines**

La résistance aux aminopénicillines est élevée (86,09%), en présence d'acide clavulanique, cette résistance baisse pour atteindre le taux de (62,25%).

Le taux de résistance pour la céfazoline (CZ) est de (98,68%), (3,97%) pour l'imipénème (IPM), (28,48%) pour la céfotaxime (CTX), et un taux de (8,61%) pour la céfoxitine (FOX).

- **Résistance aux quinolones**

Le taux de résistance est de (27,81%) pour l'acide nalidixique(NA), (31,13%) pour ciprofloxacine (CIP), et de (22,52%) pour l'ofloxacine (OFX).

- **Résistance aux aminosides**

La résistance à la gentamicine(GM) est de (14,57%).

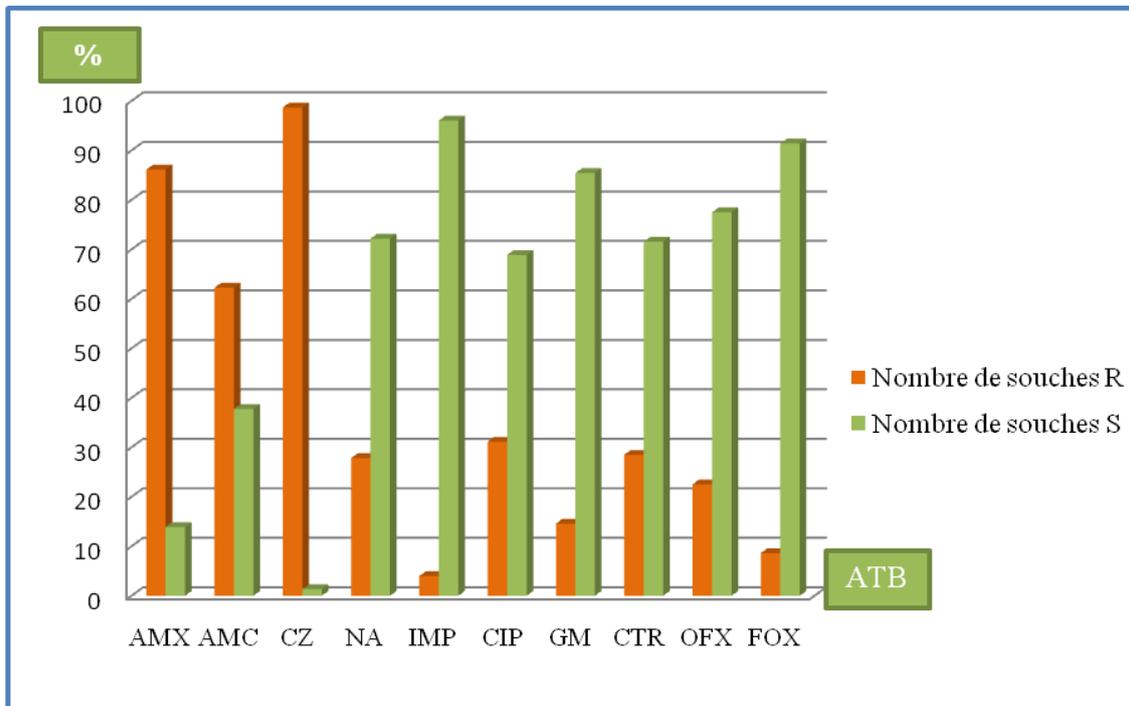


Figure 21. Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*E.coli* n=151.

Discussion

- **Bêta-lactamines**

E.coli fait partie du premier groupe (G1) des Entérobactéries, qui présente une sensibilité totale à toutes les β -lactamines (dit : phénotype sauvage).

- **Les pénicillines**

Dans notre étude, les souches d'*E.coli* présentent un taux de résistance (86,09%) pour l'amoxicilline, Ce pourcentages est bien au-delà de ceux rapportés par certains auteurs :

Une étude tunisienne rapportée en 2003 par Ben Rejeb et Boutiba (2005) avec un taux de résistance (62,5%), une autre étude européenne menée par Mahamat *et al.* (2006) avec le taux de (53%), Nos résultats restent plus élevés par rapport à une étude américaine Mathai *et*

al. (2001) qui ont montré un taux de résistance à l'amoxicilline de (37%), et d'une enquête de Hamze *et al.* (2003) ou (15%) des souches d'*E.coli* sont résistantes à l'amoxicilline.

Ces résistances notées de nos souches à l'amoxicilline s'expliquent par le fait que la plupart des souches isolées sont productrices de β -lactamases dont les pénicillinases.

Dans notre étude l'addition d'acide clavulanique a permis de restaurer l'activité de l'amoxicilline, La résistance enregistrée à l'association amoxicilline+acide clavulanique est de (62,25%), le taux de nos souches résistantes est largement supérieur à celui trouvé en Italie par Roussel *et al.* (2007) ou le pourcentage est égale à seulement (2%), Nos résultats reste plus élevé par rapport à des études menées en Algérie par Rayal (1995) avec un taux de (24%) et au Maroc par Bertrand *et al.* (2002) avec (33,34%) de résistance, ou ils ont montré une amélioration de la sensibilité par l'association amoxicilline / acide clavulanique.

Cependant à l'hôpital Fann Mboup (1996), l'association amoxicilline / acide clavulanique, S'est montrée peu active sur les souches d'*E.coli* testées (71,44%) de résistance. En effet, cette résistance à l'association amoxicilline / acide clavulanique nous a permis d'émettre l'hypothèse d'une baisse de l'activité des inhibiteurs des β -lactamases. Cette baisse peut être soit à une hyperproduction de pénicillinases, soit à l'inactivation de l'inhibiteur lui-même (Seck, 2001).

Cette résistance acquise est la conséquence de la pression de sélection due au large usage de ces antibiotiques et elle est liée à l'émergence et à la sécrétion de β -lactamase qui hydrolyse le noyau β -lactamine de la molécule, Cette résistance ne devrait avoir qu'un impact thérapeutique limité.

➤ Céphalosporines

A côté des pénicillines, on a les céphalosporines de la 3^{ème} génération (CSPIII) comme la céfotaxime dont (28,48%) de nos souches sont résistantes, ce taux est supérieure à celui rapporté par Ben hadj Khalifa et Khadher (2010) en Tunisie avec (13%), L'émergence des souches d'*E.coli* résistantes à cet antibiotique est de plus en plus observée Ben Abdallah *et al.* (2008).

➤ Carbapénemes

L'imipénème s'est révélé très efficace (96,03%) de sensibilité, cette même activité a été retrouvée par Koeck *et al.* (1992) avec un taux de (99,3%), Nos résultats se rapprochent avec ceux rapportés par Ben hadj Khalifa et Khadher (2010) en Tunisie ou l'imipénème demeure actif à (100%) sur les souches isolées.

• Les aminosides

Les souches d'*E.coli* sont naturellement sensibles aux aminosides (phénotype sauvage).

Dans notre étude, (14,57%) de résistance est enregistrée pour la gentamicine, nos résultats sont en conformité avec ceux trouvés par Ben hadj Khalifa et Khadher (2010) en Tunisie avec (15%), et de Seck (2005) à Dakar avec (17,9%) de résistance.

La résistance aux aminosides est due principalement à des enzymes modificatrices de ces antibiotiques en plus de leur faible utilisation dans l'antibiothérapie, ceci leur confère une bonne activité.

- **les quinolones**

La ciprofloxacine s'est révélé peu efficace (68,87%) de sensibilité, par contre en France Vu Thien (1998) a confirmé que la sensibilité d'*E.coli* à la ciprofloxacine est toujours supérieure à (90%).

D'après notre étude, des résistances de (31,13%) à la ciprofloxacine sont apparues. Plusieurs mécanismes ont été décrits : la mutation des souches et la consommation importante de cet antibiotique (Guibert *et al.*, 1981; Dublanchet et Burnat, 1994).

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

La résistance aux antibiotiques des 62 souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées est représentée dans la (Figure 22).

- **Résistance aux β -lactamines**

La résistance aux aminopénicillines est élevée (95,16 %), en présence d'acide clavulanique, cette résistance baisse pour atteindre le taux de (70,97%).

Le taux de résistance pour l'imipénème (IPM) et la cefoxitine(FOX) est de (8,06%), (93,55%) pour céfazoline(CZ), et un taux de (33,87%) pour la céfotaxime(CTX).

- **Résistance aux quinolones**

Le taux de résistance est de (27,42%) pour l'acide nalidixique(NA), (17,74%) pour ciprofloxacine(CIP), et de (24,19%) pour ofloxacine(OFX).

- **Résistance aux aminosides**

La résistance à la gentamicine(GM) est de (19,35%).

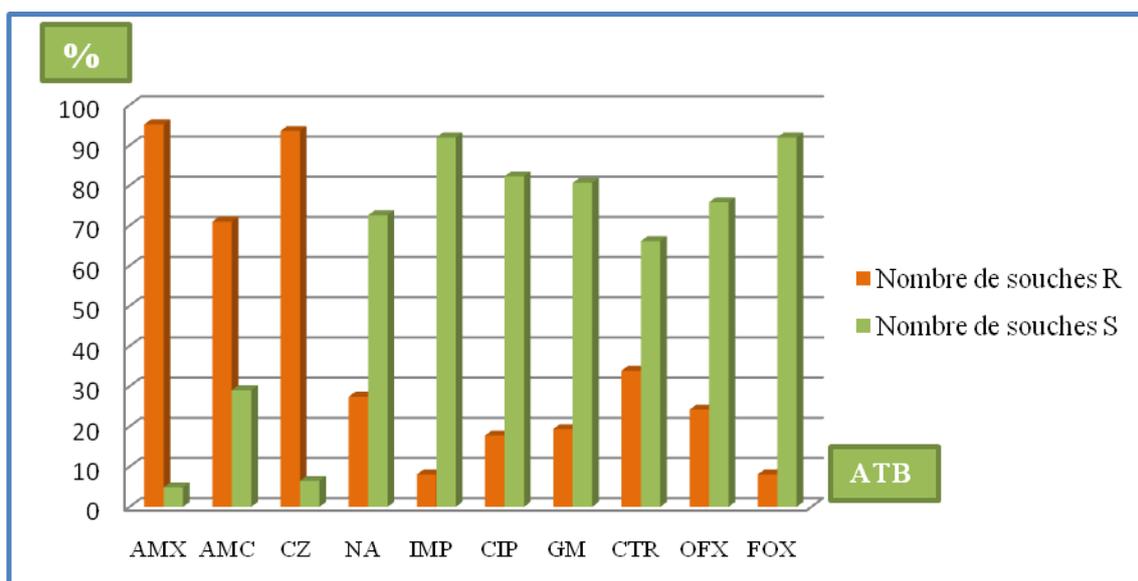


Figure 22. Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* n=62.

Discussion

• Beta-lactamines

➤ Les pénicillines

Les Klebsielles présentent une résistance naturelle aux aminopénicillines par production « d'une pénicillinase bas niveau », correspondant au phénotype sauvage.

Les Klebsielles sont totalement résistantes à l'amoxicilline.

Nos résultats montrent que (95,16%) des souches isolées sont résistantes à l'amoxicilline. L'association amoxicilline-acide clavulanique présente un taux de résistance de (70,97%), ces souches résistantes sont productrices de pénicillinases haut niveau.

Le taux de nos souches résistantes à l'association amoxicilline / acide clavulanique est largement supérieur à celui d'une étude menée par Sekhri (2011) qui a signalé un taux de (43,35%) pour l'AMC.

Cette tendance à la résistance aux aminopénicillines pourrait être expliquée par le fait que les souches secrètent des β -lactamases à spectre élargi et des pénicillinases haut niveau.

Par ailleurs la production de pénicillinase chromosomique de type SHV1 fait que ces souches soient naturellement résistantes aux aminopénicillines.

➤ Les céphalosporines

La céfazoline présente un taux de résistance très élevé avec (93,55%), la céfotaxime montre un taux de (33,87%), par contre la cefoxitine présente une bonne activité sur les souches de *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de résistance de (8,06%).

Ces résultats sont différents de ceux Sekhri (2011), qui rapportent des taux de

résistances respectivement de (73,07%) pour la céfazoline, et de (61,76%) pour le céfotaxime, et aucune résistance n'est observée pour la céfoxitine.

➤ Carbapénème

L'imipénème présente une forte activité vis à vis les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées avec un taux de résistance (8,06%), nos résultats sont équivalents de ceux rapportés par Sekhri (2011) ou aucune résistance observée.

En effet, la littérature a noté que l'activité antibactérienne de l'imipénème n'était pas modifiée par des souches productrices de β -lactamases et oppose aussi une très grande résistance à celle du type pénicillinase (chromosomique, plasmidique), céphalosporinase (inductible, constitutive) ou encore vis-à-vis des β -lactamases à spectre élargi récemment apparues (Jupeau-Vessieres et Scairzzi, 1994).

• Les aminosides

Dans notre étude une résistance de (19,35%) est présentée pour la gentamycine. Un résultat inférieur à celui rapporté par Sekhri (2011) avec un taux de (69,23%).

• Les quinolones

Dans notre étude les quinolones conservent une bonne activité vis-à-vis de *K.pneumoniae* Pour l'acide nalidixique on note un taux de résistance (27,42%), presque le même résultat rapporté par Sekhri (2011) avec un taux de (28,84%).

Concernant la ciprofloxacine on montre une résistance de (17,74%), un résultat différent de celui rapporté par Sekhri (2011) ou aucune résistance observée pour cet antibiotique.

Selon Benhadj Khalifa et Khadher (2010), *K.pneumoniae* est naturellement sensible aux quinolones, donc ce sont des résistances acquises.

3.4. Comparaison des taux de résistance des souches d'entérobactéries (*E.coli* et *K.pneumoniae*) chez les patients hospitalisés et non hospitalisés

D'un point de vue général, on remarque que le taux de résistance aux antimicrobiens dans les isolats des patients hospitalisés est significativement plus élevé que dans les isolats des patients ambulatoires pour toutes les combinaisons antimicrobiennes / organismes :

Pour amoxicilline(AMX) un taux de résistance de (96,51%) des souches isolées chez les sujets hospitalisés contre (83,46%) des souches isolées des patients externes, amoxicilline-acide-clavulanique(AMC) un taux de (83,72%) contre (51,97%), acide nalidixique(NA) (45,35%) contre (15,75%), imipénème (IPM) (11,63%) contre (0,79%), un taux de (46,51%) contre (14,17%) pour la ciprofloxacine (CIP), (37,21%) contre (1,57%) pour la gentamicine (GN), la céfotaxime(CTX) un taux de (56,98%) contre (11,81%), un taux de (47,67%) contre

(6,30%) pour l'ofloxacine (OFX) et pour la cefoxitine(FOX) la proportion de résistance des souches internes est de (12,79%) contre (5,51%) de résistances chez les souches externes.

Sauf pour la cefazoline(CZ) ou les souches isolées des prélèvements des sujets hospitalisés et des patients ambulatoires présentent presque une même résistance vis-à-vis cet antibiotique (96,51%) contre (97,64%) (Figure 23).

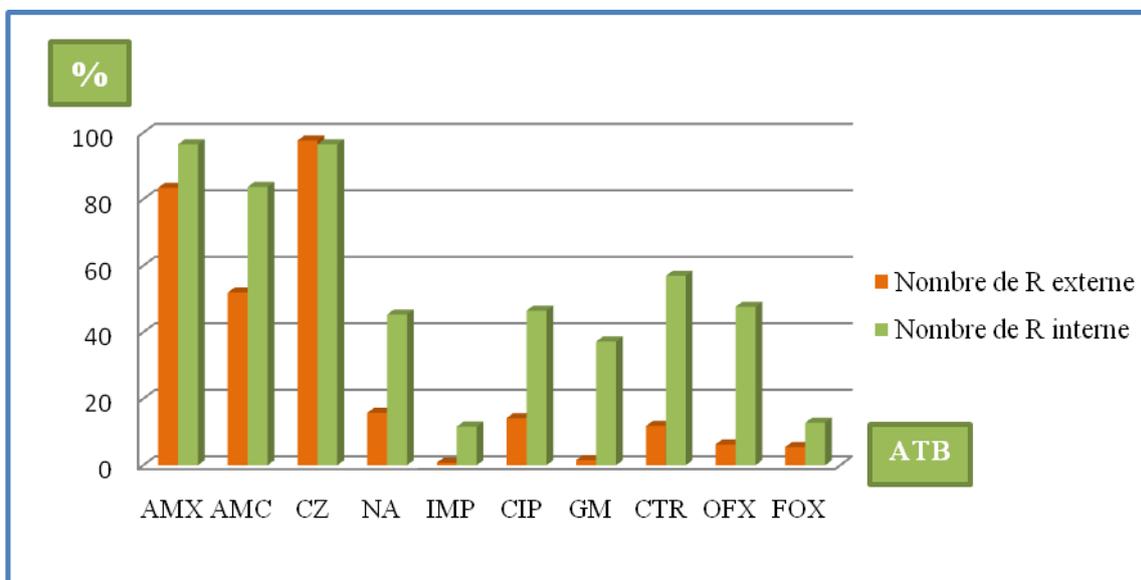


Figure 23. Comparaison des taux de résistance des souches d'entérobactéries (*E.coli* et *K.pneumoniae*) chez les patients hospitalisés et non hospitalisés.

Discussion

L'ensemble des souches isolées chez les sujets hospitalisés sont plus résistantes aux antibiotiques que celles des patients externes, constat identique rapporté par Piéboji *et al.* (2004) et par Hashemi *et al.* (2013).

L'environnement hospitalier à toujours présenté un risque de contamination pour les patients, les visiteurs et le personnel soignant. Les germes pathogènes développement des mécanismes d'adaptation à leur environnement, aussi la consommation excessive d'antibiotiques rendant la bactérie insensible à ces derniers.

Vu que de nombreux patients admis à l'hôpital ont un système immunitaire déficient, ce qui fait qu'ils ont plus de mal à combattre les infections. De plus les bactéries résistantes sont aisément transmises d'un malade à l'autre par les mains des soignants (transmission croisée) avec parfois relais par l'environnement, toute règles d'hygiène inappliquée permet leur émergence, leur expression et leur diffusion au sein d'un même service.

3.5. Evolution du nombre d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* résistants aux antibiotiques

La figure ci-dessous (Figure 24) montre que la résistance aux antibiotiques des souches isolées entre le mois de (Janvier-juin) 2017 est stable avec un taux de résistance plus élevé d'*E.coli* par rapport à celui *K. pneumoniae*.

Il y a une nette augmentation de la résistance entre (juin- septembre 2017) pour les deux espèces, par contre on remarque une chute de cette résistance (septembre-mars 2018) pour *E.coli*, alors que celle de *K. pneumoniae* continue à augmenter jusqu'au mois de décembre 2017, puis il y a une chute de cette dernière jusqu'au mois de mars 2018, mais avec une prédominance de la résistance de *K. pneumoniae* par rapport à *E.coli*.

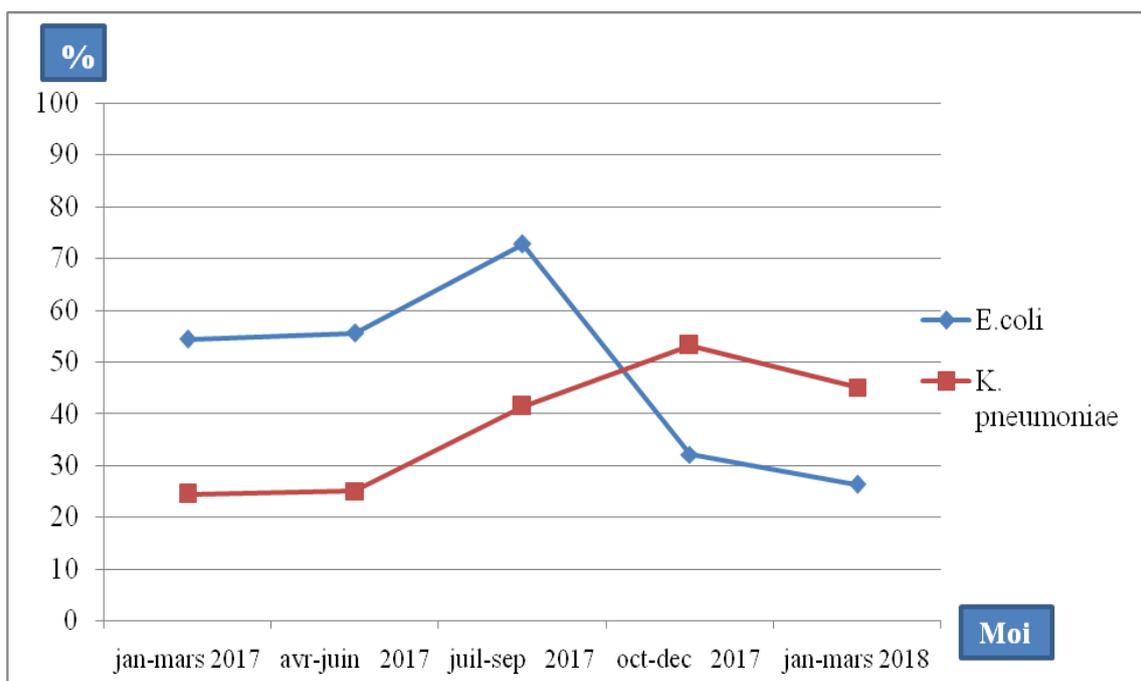


Figure 24 : Evolution du nombre d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* résistants aux antibiotiques.

Discussion

D'après les résultats obtenus, on remarque que le taux de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées est très élevé durant la saison d'été (juin-septembre) ou le nombre d'infections augmente durant cette période, vu que la ville de Kolea est une ville côtière ou il y a un flux très important des estivants (baigneurs) venu de l'intérieur du pays.

Ce qui explique qu'il y a une prise en charge très élevée des patients pendant cette saison ou l'hôpital est submergé des malades, ce qui rend le budget de l'hôpital insuffisant

par rapport aux activités de ce dernier (manque de prise en charge des patients et des quittes jetables entre autre gants, tenus, produits de désinfections (Anios....ect)), vu que le nombre des patients est très élevé pendant cette saison la désinfection régulière et efficace ne s'applique pas dans les normes, ce qui favorise la propagation et la dissémination des germes résistants plus facilement.

Conclusion

La découverte des antibiotiques a constitué un grand pas dans la lutte contre les maladies infectieuses. C'est ainsi qu'on assiste à l'émergence dans ces structures de bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques, plusieurs facteurs sont à l'origine de ce phénomène : Le développement de mécanismes d'adaptation des germes pathogènes à leur environnement, l'émergence d'espèces inhabituellement pathogènes. L'augmentation du nombre de patients immunodéprimés, l'automédication et le non respect des protocoles d'antibiothérapie par le malade et par le clinicien.

Ainsi la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques, surtout dans l'environnement hospitalier, s'avère nécessaire pour mener à bien l'antibiothérapie, elle permet de détecter l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques, de suivre l'évolution de la sensibilité aux agents antimicrobiens et de faire appel à une utilisation plus raisonnée et plus justifiée, c'est-à-dire définitive plus restreinte des antibiotiques.

Le but de notre travail est de déterminer et comparer les profils de sensibilité aux antimicrobiens des souches d'entérobactéries isolées des patients hospitalisés et ambulatoires dans l'hôpital de Kolea à partir de différents produits pathologiques

Nous avons déterminé la sensibilité de 213 souches d'*E.coli* et de *K.pneumoniae* vis à vis 10 antibiotiques par la technique de l'antibiogramme standard, les résultats de cette étude ont montré :

- ***Escherichia coli***

Parmi les β -lactamines testées, les plus efficaces sont l'imipenème, ceftioxime et la ceftazidime ; les aminopénicillines ont été très peu actifs.

Leur sensibilité en particulier à l'amoxicilline ne peut être améliorée que par l'addition d'inhibiteurs des β -lactamases comme l'acide clavulanique.

L'efficacité des quinolones telles que la ciprofloxacine reste satisfaisante.

Les aminosides ont donné de bons résultats par de bons taux d'inhibition. Ces deux groupes d'antibiotiques constituent une bonne alternative pour les infections dues à *E.coli*.

- ***Klebsiella pneumoniae***

Le profil de sensibilité est identique à celui d'*E.coli*. Il est sensible aux β -lactamines (imipenème, ceftioxime et céphalosporine de troisième génération). Les aminosides ont donné de bons résultats par de bons taux d'inhibition. Par contre les *Klebsiella* qui hébergent fréquemment des β -lactamases à spectre élargi sont particulièrement inhibées par les

fluoroquinolones, molécules toutes nouvelles, difficilement accessible du fait de leur cout et de certaines indications.

D'après nos résultats l'ensemble des souches isolées chez les sujets hospitalisés sont plus résistantes aux antibiotiques que celles des patients externes.

Il ressort de cette étude que le traitement des infections bactériennes n'est pas chose aisée surtout dans le milieu hospitalier et toute souche isolée est considérée comme responsable d'infection devrait faire l'objet d'un antibiogramme, seul garant d'un traitement efficace et rapide. En outre, l'antibiogramme aussi efficace qu'elle soit ne suffit pas pour combattre ces infections. Des moyens de prévention adéquate devraient lui être associés :

- La sensibilisation des populations par une politique d'hygiène et en bannissant l'automédication ;
- L'éducation du personnel sanitaire afin d'éviter au maximum les infections nosocomiales.

Étant donné que l'incidence de la résistance aux antimicrobiens est considérablement plus élevée dans les isolats des patients hospitalisés que dans les pathogènes ambulatoires, d'avantage de ressources devraient être allouées à l'hôpital pour encourager de bonnes pratiques antibiotiques et une bonne hygiène hospitalière.

Afin d'avoir un bon suivi de l'évolution de la résistance aux agents antimicrobiens et d'obtenir des résultats plus précis il est préférable d'effectuer une étude plus prolongé sur une période de longue durée.

Bibliographie

- Abbott S. L. 2007. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. Manual of clinical microbiology, Washington, DC: ASM press, 9:698-715.
- Avril J. L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. 2000. Bactériologie clinique, Ellipses. 2^{ème} édition, Paris, pp. 171-211.
- Bagley S. T., Seidler R. J., Talbot H. W. J., Morrow J. E. 1978. Isolation of Klebsiella from within living wood. *Appl environ microbiol* 36:178-185.
- Baraduc R., Darfeuille-Michaud A., Forestier C., Jallat C., Joly B., Livrelly D. 2000. Escherichia coli et autres Escherichia, Shigella. Précis de bactériologie clinique. Editions ESKA, pp. 1115-1126.
- Ben Abdallah H., Sahnoun O., Ben Romdhane F., Loussaif C. 2008. Profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de Monastir. *RevTunInfectiol.* 2:5-8.
- Ben Haj Khalifa A., Khedher M. 2010. Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire Tahar sfar de Mahdia. *Revue Tunisienne d'Infectiologie* 4(2):57-6.
- Ben Rejeb S., Boutiba I. 2005. L'antibiorésistance, Tunisie. LAB-MDT.
- Bertrand X., Thouverez M., Bruand L., Bonnin M., Cellier- Julienne G. 2002. Escherichia coli : sensibilité aux Béta-lactamines et diversité génomique des souches isolées en Franche-Comté. *Med. Mal. Infect.* vol. 32, pp. 8-18.
- Cattoir V. 2012. Quinolones: de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue Francophone des Laboratoires* 2012, pp. 79-87.
- Cavallo J-D., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabé E. 2004. Bêtalactamines. *EMC Maladies infectieuses* 1:129-202.
- Cécile Okalla Ebongue., Martial Dongmo Tsiyok., Jean Pierre Nda Mefo'o., Guy Pascal Ngaba., Gérard Beyiha., Dieudonné Adigo. 2015. Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *69(11):623-36.*
- Chaabane A., Aouama K., Boughattas NA., Chakroun M. 2009. Allergie aux bêtalactamines: mythe et réélités. *Ed Elsevier Masson. Médecine et maladies infectieuses* 39:278-287.

- Chung K. I., Lim T. H., Koh Y., Song J. H., Kim W. S., Choi J., MandAush Y. H. 1992. Nosocomial *pneumonia* in medico-surgical intensive care unit. *J Korean MedSci* 7:241-251.
- Dublanquet A., Burnat C. 1994. *Escherichia coli* dans un hôpital général de 1982 à 1992
- Farmer J. J., Boatwright K. D., Janda J. M. 2007. Enterobacteriaceae: Introduction and identification. Manual of clinical microbiology. 9ème édition, Washington, DC, USA: ASM press, pp. 649-669.
- Fauchère J-L., Avril J-L. 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed ellipses, p. 280.
- Faure S. 2008. Les quinolones et les fluoroquinolones. Actualités pharmaceutiques 447:41-43.
- Faure S. 2009. Les aminosides. Actualités pharmaceutiques 480:49-53.
- Fisher J-F., Meroueh S-O. 2005. "Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity". *ChemRev* 105(2):395-424.
- Fomba M. 2006. Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus* a coagulase négatif à l'hôpital du point G. Thèse de doctorat en pharmacie.
- Guembe M., Cercenado E., Alcalá L., Marín M., Insa R., Bouza E. 2008. Evolution of antimicrobial susceptibility patterns of aerobic and facultative gram-negative bacilli causing intra-abdominal infections: results from the SMART studies 2003-2007. *Revista EspanoladeQuimioterapia* 21(3):166-73.
- Guibert J., Galdstein F. W., LAFATTE C., GAUDIN H. 1981. Infection à entérobactéries. EMC, Paris, Maladies infectieuses, pp. 80-16.
- Hamze M., Dabboussi F., IZARD D. Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques : Etude sur quatre ans (1998-2001) dans le nord du Liban. *Santé : Montrouge*. 2003. Vol. 13, pp. 107-112.
- Hashemi SH., Esna-Ashari F., Tavakoli S., Mamani M. 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.
- Janda J. M., Abbott S. L. 2006. The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*. *The Enterobact*
- Jauregui F. 2009. Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. *Med Sci, Paris*, 25(3):221-223.
- Jupeau-Vessieres A. M., Scairzzi M. R. 1994. Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Edition technique- Encycl. Med. Chim. Paris. 16 p.

- Katzung B., Masters S., Trevor A. 2009. Basic and clinical pharmacology. 11ème édition, McGraw-Hill Education.
- Koeck J. L., Carvallo J. D., Fabre R., Meyran M., Roue R. 1992. Sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif aérobies isolés d'infections sévères. Résultats d'une étude multicentrique française. La presse médicale, vol. 25, pp. 1363-1366.
- Kohanski MA., Dwer D. J., Collins J. J. 2010. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. Nature reviews microbiology 8:423-435.
- Lavigne J-P. 2007. Effet des antibioques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie, Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.
- Magnet S., Blanchard J. S. 2005. Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. Chem. Rev 105:477-497.
- Mahamat A., Lavigne JP., Bouziges N., Daurés JP., Sotto A. 2006. Profils de résistance des souches urinaires de Proteus mirabilis Nimes. PatholBiol, vol. 54, pp. 456-461.
- Mathai D., Jones RN., Paller RA. 2001. Epidemiology and frequency of resistance among pathogenes causing urinary tract infections in 1.510 hospitalized patients: a report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, North America.
- Mboup E. M. 1996. Sensibilité des bacilles à Gram négatif au CHU de FANN. Thèse Pharm, Dakar, 75 p.
- Med. Mal. Infect. vol. 24, pp. 530-434.
- Mérens A., Aurélie S. 2010. Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. La résistance aux anti-infectieux. Revue francophone des laboratoires 422:33-41.
- Nauciel C. 2000. Bactériologie médicale. Ed ellipses, p. 56.
- Nordmann P. 2006. l'émergence de la résistance aux quinolones chez les entérobactéries. Pathologie biologie 54:7-9.
- Nukaga M., Mayama K., Hujer A-M., Bonoma R-A., Knox J-R. 2003. Ultrahigh resolution of class A beta-lactamase: on the mechanism and specificity of the extended spectrum SHV-2 enzyme. J.Mol.Biol 328:289-301.
- Page Clive P., Curtis Michael J., SutterMorly C. 1999. Pharmacologie intégrée. P. 491.
- Perronne C. 1999. Maladies infectieuses. Volume 1. P. 65.
- Piéboji JG., Koulla-Shiro S., Ngassam P., Adiogo D., Njine T., Ndumbe P. 2004. Antimicrobialresistance of gram-negative bacilli isolates from inpatients and outpatients at Yaounde Central Hospital, Cameroon. International journal of infectious diseases8:147-54.

- Pieboji J-K., Koulla- Shiro S., Ngassam P., Adiogo D., Njine T. 2004. La résistance antimicrobienne des isolats de bacilles à Gram négatif chez des malades hospitalisés et des patients externes a l'hôpital central de Yaoundé, Cameroun. *International journal of infectious diseases* 8(3):147-154.
- Podschun R., Ullmann U. 1998. *Klebsiellaspp* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* 11:589-603.
- Poisson J. 1992. Glycoaminosides. In *traite de chimie thérapeutique. Volume 2. Médicaments antibiotiques*. Edition Tec et Doc, Lavoisier.
- Rahal K., Benslimani A., Tali-Maamar H., Missoum M.F.K., Aboun A., Ammari H. (2008). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 5^{ème} édition, 108 p.
- Ramirez M. S., Tolmasky M. E. 2010. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug resistance updates* 13:151-171.
- Rayal R. Sensibilité aux antibiotiques de souches bactériennes isolées de prélèvements divers : résultats à propos de 111 isolats. *Med. Digest*. 1995. pp. 8-17.
- Rodriguez-Martinez J. M., Cano M. E., Velasco C., Martinez-Matinez L., Pascual A. 2011. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *Journal of infection and chemotherapy* 17:149-182.
- Roussel-Delvallez M., Caillaux M., Cattoen C., Decoster A., Descamps D., Graveline N. 2007. Prévalence de la résistance d'*Escherichia coli* isolés de prélèvements d'origine urinaire au gastro-intestinale vis-à-vis de l'association amoxicilline-acide clavulanique et de divers antibiotiques. 9(1):65-69.
- Sahly H., Ancken H., Benedi V. J., Forestier C., Füssing V., Hansen D. S., Ofek I., Podshun R. 2004. Impairment of respiratory burst in polymorphonuclear leukocytes by extended-spectrum beta-lactamase-producing strains of *Klebsiellapneumoniae*. *Eur J Clinmicrobiol infect Dis* 23:20-26.
- Seck A. 2001. Données sur la résistance des souches à l'origine d'infections nosocomiales (1990-2000) au CHU de Dakar. Thèse Pharm, Dakar, 83 p.
- Seck R. 2005. Résistance des souches d'*E.coli* et de *K.pneumoniae* isolées d'infections urinaires. Thèse de doctora en pharmacie, Université Cheikh Anta Diop-DAKAR, pp. 22-53.
- SekhriArafa N. 2011. Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiellapneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Ben Badis de Constantine. Thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences.

- Soussy C.-J. 2007. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie, pp. 21-46.
- Stone P. W., Gupta A., Loughrey R. N., Della-Latta P. H., Cimiotti R. N., Larson E., Rubenstein D., Saiman L. 2003. Attributable cost and length of stay of an extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiellapneumoniae* outbreak in a neonatal intensive care unit. 24:601-606.
- Thabet L., Messade A-A., Meddeb B., Monder M., Turki A., Benrjeb. 2010. Bacteriological profil of urinary tract infections in women in AZIZA Othmana. La Tunisiemédicale 88(12):898-90.
- Vu Thien H. 1998. Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les infections urinaires en pédiatrie. Archives de pédiatrie, vol. 5, pp. 266-268.
- Wolff M., Joly-Guillou ML., Pajot O. 2009. Les carbapénèmases. Comparative review of carbapenemes. Reanimation 18:199-208.
- Yala D., Merad A-S., Mohameddi D., OoarKorich M-N. 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. Ed Médecine du Maghreb 91:1.
- Yanat B., Touati A., Benallaoua S. 2008. Etude de la résistance aux quinolones de souches d'entérobactéries d'origine communautaires isolées dans la région de Bejaia. Laboratoire de microbiologie appliquée. FSNV. Université A/MIRA de Bejaia.

Sites Web

1. http://www.antibiotique.eu/uploads/1/1/2/6/1126000/9933120_orig.jpg
2. www.bacteriologie.net

Annexe 01

La classification des antibiotiques par familles.

CLASSEMENT DES ANTIBIOTIQUES PAR FAMILLES			
Béta Lactamines	PENICILLINES		
	Pénicillines G	Pénicilline G	
	Pénicillines A	Aminopénicillines	Ampicilline (AM)
			Amoxicilline(AMX)
			Amoxicilline +Ac clavulanique (AMC)
		Carboxypénicillines	Ticarcilline (TIC)
			Ticarcilline+Ac clavulanique (TCC)
	Acylureidopénicillines	Piperacilline (PIP)	
	Pénicillines M	Oxacilline (OXA)	
	CARBAPENEME		
	Imipénème(IPM)		
	CEPHALOSPORINES		
	Première génération	Céfalotine(CF)	
		Céfalexine(CN)	
		Céfazoline(CZ)	
	Deuxième génération	Céfuroxime (CXM)	
		Céfoxitine (FOX)	
		Céfotetan (CTT)	
		Céfamondole (MA)	
	Troisième génération	Céftriaxone (CRO)	
		Céfotaxime (CTX)	
Céftazidime (CAZ)			
Céfixime (CEM)			
Céfsulodine (CFS)			
MONOBACTAME			
Aztréonam (ATM)			

CLASSEMENT DES ANTIBIOTIQUES PAR FAMILLES				
Aminosides Et aminocyclitol	Streptomycine (S)/(STR) HN		Glycopeptide	Vancomycine (VA)
	Spectinomycine (SPT)			Teicoplanine (TEC)
	Kanamycine (K)/(KAN) HN		Polypeptides	Bacitracine (B)
	Tobramycine (AN)			Colistine (CS)
	Amikacine (AN)		Sulfamides et associations	Cotrimoxazole (SXT)
	Gentamicine (GM)			Triméthoprime (TMP)
phénicoles	Chloramphénicol (C)			Sulfamides (SSS)
Tétracyclines	Tétracycline (TE)		Nitrofuranes	
	Doxycycline (DO)		Quinolones	acnalidixique (NA)
	Minocycline (MNO)			Ciprofloxacine (CIP)
Macrolides et apparenté	Macrolides	Erythromycin (E)		Ofloxacine (OFX)
		Spiramycine (SP)	Pefloxacine (PEF)	
	lincosamide	Lincomycine (L)	Lévofloxacine (LVX)	
		Clindamycine (CM)	Rifampicine (RIF)	
		Pristinamycin (PT)	Acide fusidique(FA)	
Virginiamycine (VC)		Fosfomycine (FOS)		
			Divers	Métronidazole (MTR) (Flagyl*)

Annexe 02

Appareillage, verreries, réactifs et solutions.

Appareillage et verreries	Réactifs et solutions
<ul style="list-style-type: none">• gants jetables• bec bunsen• étuve d'incubation à 37°C• étuve de séchage à 60°C• réfrigérateur à 4°C• microscope optique• écouvillons stériles• boîte de pétri• lame et lamelle• pipette pasteur stérile• tube à essai stérile• portoir• pied à coulisse• pince métallique et en bois• cellule MALASSEZ	<ul style="list-style-type: none">• eau physiologique stérile a 0,9%• eau distillée stérile• eau de javel• eau oxygénée (H₂O₂)• alcool à 95°• violet de gentiane• lugol• fuschine• bleu de méthylène• réactif de Kovacs• NR I et NR II• VP I et VP II• réactif de tryptophane désaminase• l'huile de vaseline• TDA

Les antibiotiques testés.

Disques d'antibiotiques	β - lactamines	Aminosides	Quinolones
	<ul style="list-style-type: none"> -Amoxicilline(AMX) (25μg) -Amoxicilline-acide-clavulanique(AMC) (30μg) -Cefoxitine(FOX) (30μg) -Cefazoline(CZ) (30μg) -Céfotaxime(CTX) (30μg) - Imipénème (IPM) (10μg) 	<ul style="list-style-type: none"> -Gentamicine(G) (15μg) 	<ul style="list-style-type: none"> -Acide nalidixique(NA) (30μg) -Ciprofloxacine (CIP) (5μg) -Ofloxacine (OFX) (5 μg)

Milieux de culture utilisés et disques imprégnés.

Milieux d'isolements	Milieux d'enrichissements
<ul style="list-style-type: none">• gélose nutritive• gélose hektoen• gélose chapman	<ul style="list-style-type: none">• gélose au sang (cuit/frais)• gélose Muller-Hinton (MH)
Disques imprégnés	
<ul style="list-style-type: none">• disque d'oxydase• disque d'ATB	

Composition des milieux de culture.

Milieu	Composition g/1	Utilisation
Gélose nutritive 	Peptone.....10 Extrait de viande3 Extrait de levure3 Agar.....18 PH.....7,3+/-0,2	Milieu universel pour la culture des germes peu exigeants dans les eaux, les boissons et les produits biologique.
Gélose chapman 	Extrait de viande3 Extrait de levure3 Tryptone5 Peptone bactériologique....10 Chlorure de sodium.....70 Mannitol.....1 0 Rouge de phénol.....0,05 Agar.....18 pH7,4±0,1	Milieu sélectif pour l'isolement et l'enrichissement des staphylocoques pathogènes dans les produits biologiques en microbiologie médicale
Gélose héktoen 	Peptone pepsique de viande.....15 Extrait de viande.....3 Extrait de levure.....3 Chlorure de sodium.....5 Sels biliaires.....4 Salicine.....2 Lactose.....1 2 Saccharose.....12 Fuchsine acide0,1 Bleu de bromothymo...0,065 Agar.....18 pH7,4+/-0,2	Isolement des entérobactéries

<p>Gélose muller-hinton</p> 	<p>Infusion de viande de bœuf déshydratée.....3 Hydrolysate de caséine... .17,5 Amidon de maïs17,5 Agar16 pH7,3</p>	<p>Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes</p>
<p>Gélose au sang cuit</p> 	<p>Muller-Hinton.....90% Sang de cheva.....10% pH7,3</p>	<p>Isolement des germes exigeants</p>
<p>Gélose au sang frais</p> 	<p>Mueller-Hinton.....90% Sang de mouton.....5% pH.....7,3</p>	<p>Isolement des germes exigeants</p>

Annexe 03**FICHES DE RENSIGEMENTS**

1/ IDENTITE DU MALADE :

N°D'ORDRE :

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE / AGE
NOM de jeune	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Fille			
Pour			

Les femmes mariées

Sexe :	<input type="text"/>	Externe :	<input type="text"/>	enceinte : OUI	<input type="text"/>	NON	<input type="text"/>
--------	----------------------	-----------	----------------------	----------------	----------------------	-----	----------------------

Hospitalisé :	<input type="text"/>	Date d'hosp	<input type="text"/>
---------------	----------------------	-------------	----------------------

Profession:	<input type="text"/>	Service:	<input type="text"/>
-------------	----------------------	----------	----------------------

Adresse:	<input type="text"/>	Hopital:	<input type="text"/>
----------	----------------------	----------	----------------------

Wilaya:	<input type="text"/>	Wilaya:	<input type="text"/>
---------	----------------------	---------	----------------------

2/ PRELEVEMENTS :

Nature :	<input type="text"/>	Nbre :	<input type="text"/>
----------	----------------------	--------	----------------------

Date de Prélèvements :	<input type="text"/>	Heure de prélèvement :	<input type="text"/>
------------------------	----------------------	------------------------	----------------------

3/ RENSEIGNEMENTS CLINIQUES DU DIAGNOSTIC :

--

4/ TRAITEMENT A.T.B :

Traitement A.T.B reçus	OUI	<input type="text"/>	NON	<input type="text"/>
------------------------	-----	----------------------	-----	----------------------

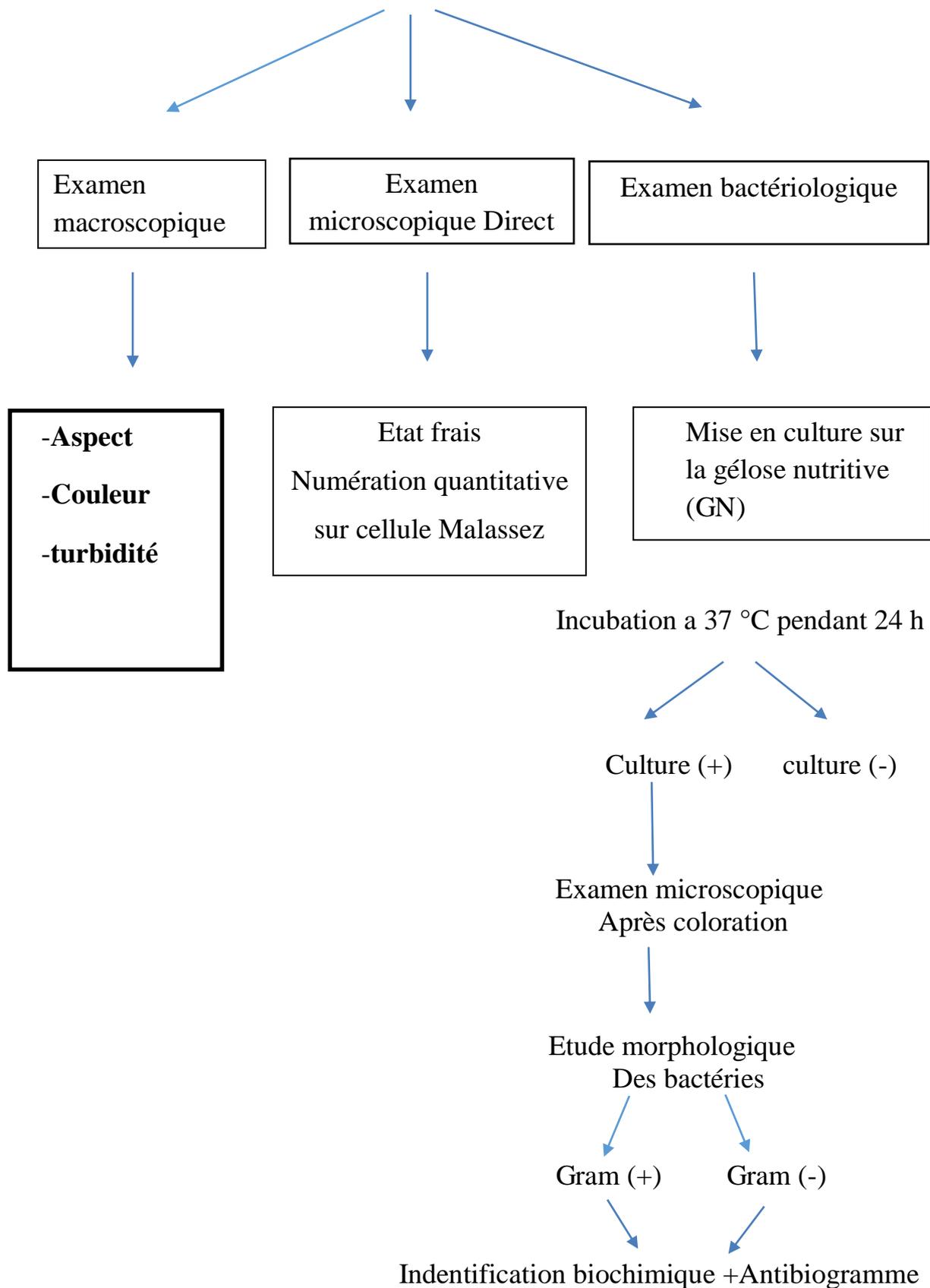
NOM DE L'A.T.B	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Date de Début	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Durée	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

N.B : Tout prélèvement sans fiche de renseignements bien remplie sera refusé
Signature et cachet du medecin

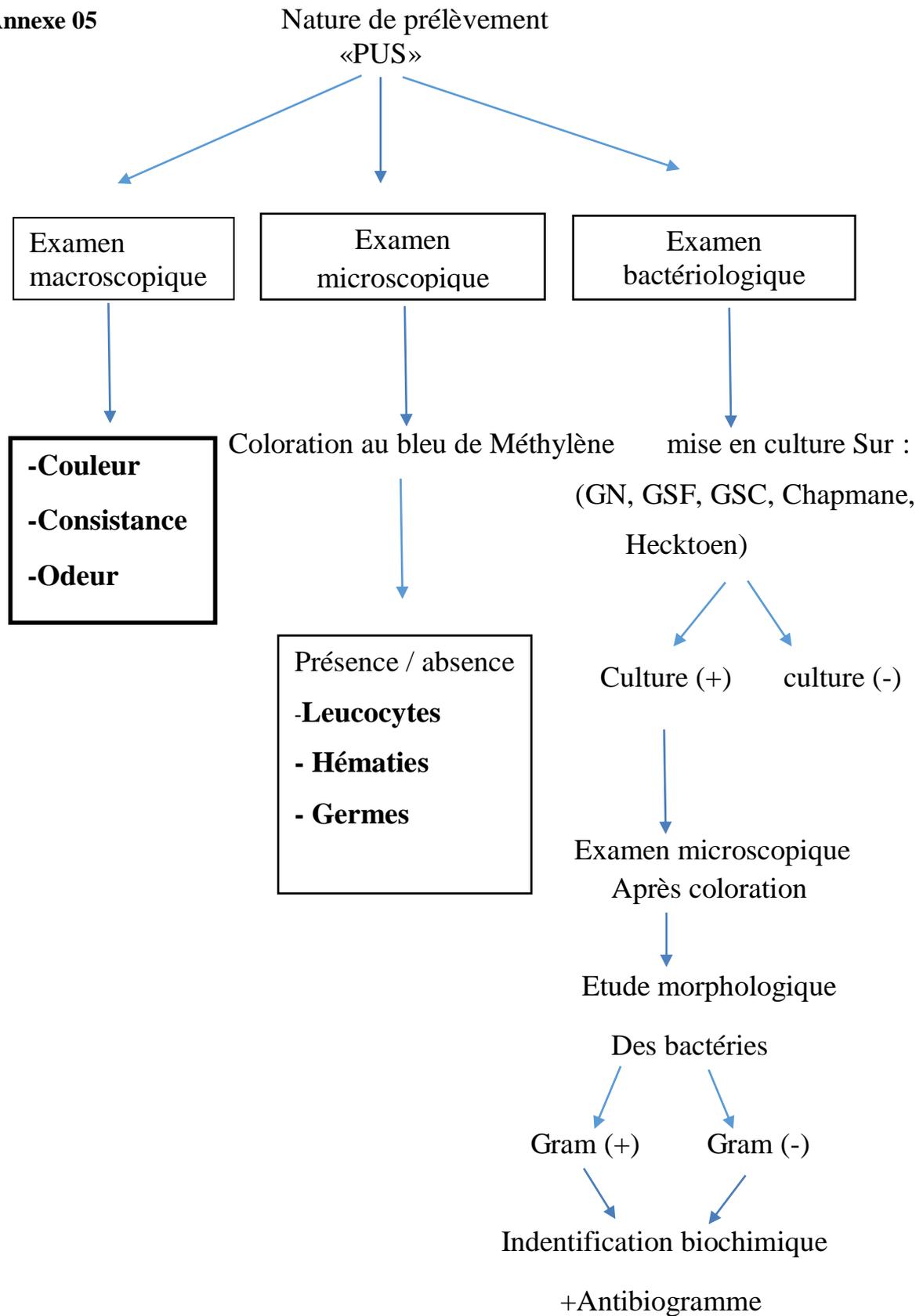
Annexe 04

Nature de prélèvement

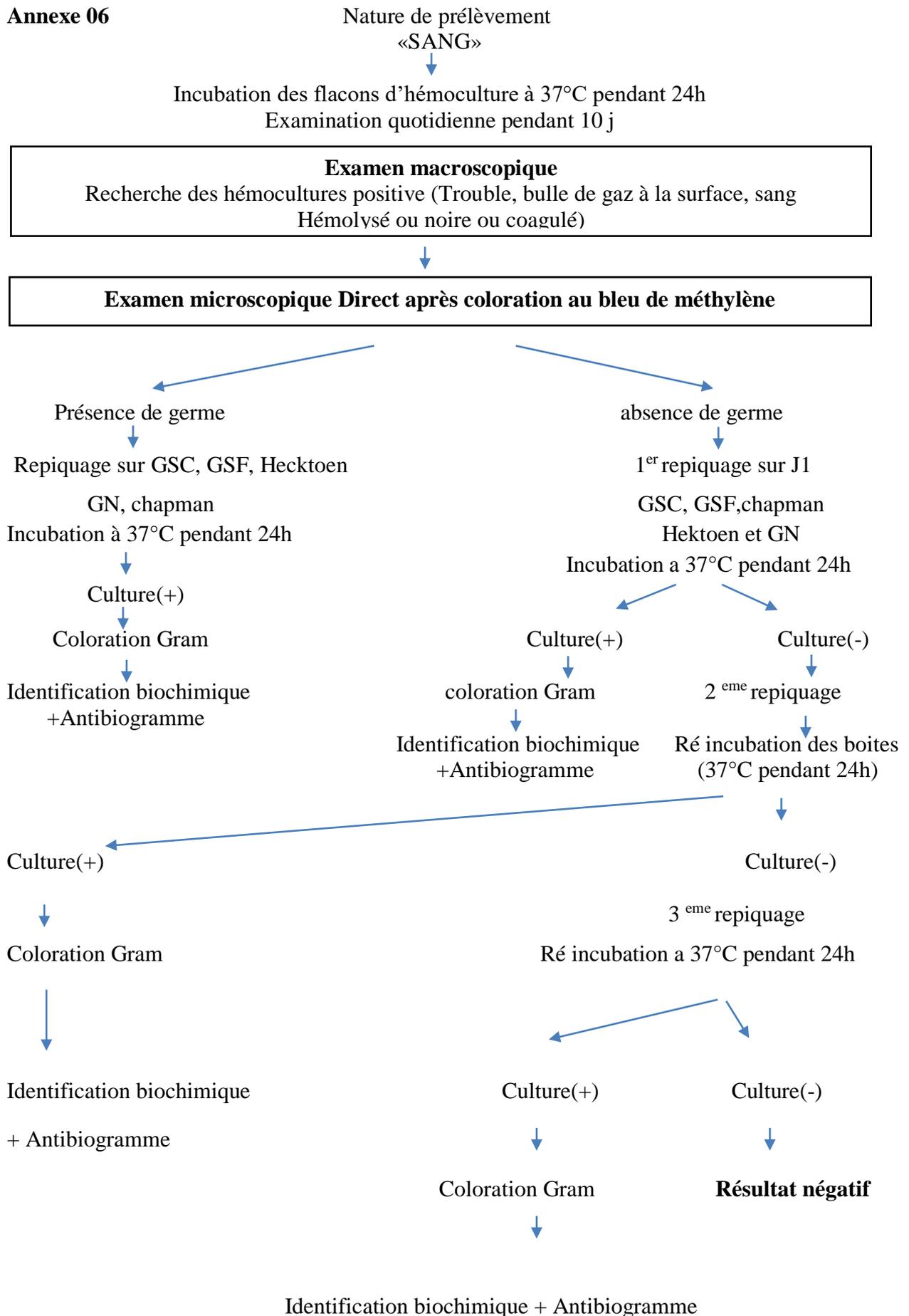
«Urine»



Annexe 05



Annexe 06



Annexes 07

La lecture de la galerie miniaturisée API 20 E.

Tests	substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Orth-nitro-phenyl-galactoside	Beta -galactosidase	incolore	jaune
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 su citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisatre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	tryptophane	Production d'indole	IND/2mn, maxi	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acetoine	VP1+VP2/10mn	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	glucose	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
MAN	Mannitol	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
INO	Inositol	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
SOR	Sorbitol	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
RHA	Rhamnose	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
SAC	Saccharose	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
MEL	Melibiose	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
AMY	Amygdaline	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
ARA	Arabinose	Femmentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome-oxydase	Ox/5-10mn	
			incolore	Anneau violet
NO3-NO2	Tube GLU	Production de NO2	NIT1+NIT2/2-3mn	
			Jaune	Rouge
		Réduction au stade N2	ZN	
			Rouge	Jaune
CAT		Possession d'une catalase	H2O2/1-2mn	
			Pas de bulles	Bulles



Catalogue analytique.

Annexe 08

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition (Rahal et al., 2008).

Antibiotique testés	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10µg	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline + acide clavulanique*	20/10µg	≤13	14-17	≥18
Céfazoline	30 µg	≤14	15-17	≥18
Céfalotine	30µg	≤17	18-20	≥21
cefotaxime	30 µg	≤17	18-20	≥21
céftriaxone	30µg	≤13	14-17	≥18
Imipénème/Meropénème	10µg	≤12	13-14	≥15
ertapénème	10µg	≤12	13-15	≥16
amikacine	30µg	≤12	13-15	≥16
gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
Acide nalidixique	30µg	≤13	14-18	≥19
ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21
chloramphénicol	30µg		13-17	≥18
colistine
furanes	300µg	≤14	15-16	≥17
fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤10	11-15	≥16

Annexes 09

Distribution des souches isolées selon la source n=213.

Patients	Effectif	Pourcentage
Externes	127	59,62
Internes	86	40,38
Totale	213	100

Incidence des espèces isolées.

Souches isolées	Nombre	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	151	70,89
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	62	29,11
Total	213	100,00

Distribution des souches isolées selon le sexe n=213.

		Nombre et pourcentage des bactéries			
		Sexe féminin n= 129		Sexe Masculin n=84	
Bacteries	Effectif	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	151	95	62,91	56	37,09
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	62	34	54,84	28	45,16
Totale	213	129	60,56	84	39,44

Distribution des souches isolées selon la nature de prélèvement n=213.

Prélèvement	Effectif	Pourcentage
Pus	42	19,72
ECBU	157	73,71
Hémoculture	14	6,57
Totale	213	100,00

Répartition des souches isolées selon les services.

Service	L'effectif	Pourcentage (%)
Chirurgie générale	14	16,28
Maladies infectieuses	30	34,88
Néphrologie	6	6,98
Urgences	9	10,47
Médecine interne	16	18,60
Réanimation	11	12,79
Total	86	100

Profil de résistance globale des entérobactéries (*E.coli* et *K.pneumoniae*) isolées n=213.

Antibiotiques	Nombre de souches résistantes	R %	Nombre de souches sensibles	S %
AMX	189	88,73	24	11,27
AMC	138	64,79	75	35,21
CZ	207	97,18	6	2,82
NA	59	27,70	154	72,30
IMP	11	5,16	202	94,84
CIP	58	27,23	155	72,77
GM	34	15,96	179	84,04
CTR (CTX)	64	30,05	149	69,95
OFX	49	23,00	164	77,00
FOX	18	8,45	195	91,55

Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* n=151.

Antibiotiques	Nombre de souches résistantes	R %	Nombre de souches sensibles	S %
AMX	130	86,09	21	13,91
AMC	94	62,25	57	37,75
CZ	149	98,68	2	1,32
NA	42	27,81	109	72,19
IMP	6	3,97	145	96,03
CIP	47	31,13	104	68,87
GM	22	14,57	129	85,43
CTR	43	28,48	108	71,52
OFX	34	22,52	117	77,48
FOX	13	8,61	138	91,39

Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* n=62.

Antibiotique	Nombre de souches résistantes	R %	Nombre de souches sensibles	S %
AMX	59	95,16	3	4,84
AMC	44	70,97	18	29,03
CZ	58	93,55	4	6,45
NA	17	27,42	45	72,58
IMP	5	8,06	57	91,94
CIP	11	17,74	51	82,26
GM	12	19,35	50	80,65
CTR	21	33,87	41	66,13
OFX	15	24,19	47	75,81
FOX	5	8,06	57	91,94

Comparaison des taux de résistance des souches d'entérobactéries (*E.coli* et *K.pneumoniae*) chez les patients hospitalisés et non hospitalisés.

Antibiotique	Externe				Interne			
	Résistant	% R	Sensible	% S	Résistant	% R	Sensible	% S
AMX	106	83,46	21	16,54	83	96,51	3	3,49
AMC	66	51,97	61	48,03	72	83,72	14	16,28
CZ	124	97,64	3	2,36	83	96,51	3	3,49
NA	20	15,75	107	84,25	39	45,35	47	54,65
IMP	1	0,79	126	99,21	10	11,63	76	88,37
CIP	18	14,17	109	85,83	40	46,51	46	53,49
GM	2	1,57	125	98,43	32	37,21	54	62,79
CTR (CTX)	15	11,81	112	88,19	49	56,98	37	43,02
OFX	8	6,30	119	93,70	41	47,67	45	52,33
FOX	7	5,51	120	94,49	11	12,79	75	87,21

Evolution du nombre d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* résistants aux antibiotiques.

Mois	<i>E.coli</i>		<i>k.pneumoniae</i>	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
jan-mars 2017	136	54,4	22	24,44
avr-juin 2017	150	55,56	30	25
juil-sep 2017	160	72,73	29	41,43
oct-dec 2017	109	32,06	85	53,13
jan-mars 2018	113	26,28	81	45

ملخص

أجريت هذه الدراسة في مختبر علم الجراثيم في المؤسسة الإستشفائية العمومية القليعة ولاية تيبازة، حيث أجرينا دراسة إسترجاعية للمدة المتراوحة ما بين جانفي 2017 الى مارس 2018 على نوعين من البكتيريا المسؤولين عن العدوة المختلفة تم عزلها من عينات مرضية مختلفة إشرشيا كولي وكليبيلا بنومونيا و اللتان تم تحديدهما من خلال واجهة برمجة التطبيقات للبيوكيميائية المصغرة (API 20 E). إعتدنا في عملنا هذا على تقدير مقاومة البكتريا المعزولة بالنسبة الى مضادات حيوية مختلفة متنوعة بمقارنة مقاومة السلالات المعزولة من المرضى الداخليين والخارجين، تم تحديد الحساسية للمضادات الحيوية باستخدام طريقة DST القياسية بأقطار التثبيط، نتائجنا كانت كالتالي: بالنسبة للبيطالكتامينات (أموكسولين وحمض كلافولانيك) كانا قليلا النشاط، السيفالوسبورين لا يزال مرضيا. من ناحية أخرى الإيمبينام لديه نشاط جيد للغاية على السلالات المعزولة، تبقى فاعلية الأمينوغليكوزيداتوالكينولون مرضية لكن مع ذلك هناك بعض حالات المقاومة زيادة على ذلك كانت السلالات المعزولة من المرضى في المستشفيات أكثر مقاومة للمضادات الحيوية من تلك التي تم عزلها المرضى الخارجين. **كلمات المفتاحية:** إشرشيا كولي، وكليبيلا بنومونيا، المضادات الحيوية، المرضى الخارجين، المرضى الداخليين.

Résumé

La présente étude a été réalisée au laboratoire de bactériologie de l'EPH de Kolea wilaya de Tipaza. On a effectué une étude rétrospective menée durant une période allant de (janvier 2017- mars 2018) sur 2 espèces d'entérobactéries responsables d'infections divers : *E.coli* et *K.pneumoniae*, qui ont été identifiés par la galerie biochimique miniaturisée (API 20 E). Notre travail a été consacré sur la détermination de la résistance des souches isolées à différents antibiotiques suivit d'une comparaison des profils de résistances des entérobactéries isolées chez les patients hospitalisés et ambulatoires. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée avec la méthode d'antibiogramme standard avec des diamètres d'inhibition.

Les bêta-lactamines à savoir l'amoxicilline-Acide clavulanique ont été très peu actifs, les céphalosporines restent satisfaisantes, par contre l'imipenème exerce une très bonne activité. L'efficacité des aminosides et des quinolones reste satisfaisante. Mais cependant on note quelques cas de résistance. Aussi les souches isolées des patients hospitalisés ont été plus résistantes aux antibiotiques que celles des malades ambulatoires.

Mots clés : *E .coli* ; *K. pneumoniae* ; résistance, antibiotiques ; patients hospitalisés ; patients ambulatoires.

Abstract

The present study was carried out in the laboratory of bacteriology of the EPH of Kolea wilaya of Tipaza. A retrospective study (January 2017-March 2018) was conducted on 2 Enterobacteriaceae species responsible for various infections: *E.coli* and *K.pneumoniae*, which were identified by the API miniaturized biochemical gallery. 20E. Our work was devoted to the determination of the resistance of strains isolated to different antibiotics followed by a comparison of the resistance profiles of enterobacteria isolated in hospitalized and ambulatory patients. Antibiotic sensitivity was determined by the standard DST method with inhibition diameters.

Bêta-lactams, (amoxicillin-clavulanic acid) have been very little active, cephalosporins remain satisfactory, on the other hand the imipenem have a very good activity. The efficacy of aminoglycosides and quinolones remains satisfactory. But however there are some cases of resistance. Also, strains isolated from hospitalized patients were more resistant to antibiotics than those from outpatients.

Key words: *E .coli*; *K. pneumoniae*; resistance, antibiotics; hospitalized patients; outpatients.