

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Faculté des Sciences

Département de science de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

Melle. Imène Benchiha

Mme.Amina Nemra Bendidani

Thème:

**Etude de la résistance aux antibiotiques chez les Entérobactéries isolées à
l'hôpital de Benzardjeb (Ain Temouchent)**

Encadrant :

DR. Meriem LACHACHI

Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu publiquement Le 16/06/2019

Devant le jury :

Président: M. (Sofiane BENYAMINA) Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Examinatrice : Melle. (Meriem ZERYOUH) Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Encadrant : Mme. Meriem LACHACHI Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Remerciement

*Avant tous je remercie **Dieu, Allah tout puissant**, de nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.*

Merci de nous avoir octroyé une si bonne sagesse, une volonté titanesque, et qui nous a aidé dans un parcours acharné envers le savoir scientifique.

Merci ALLAH de nous avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever nos mains vers le ciel et de demander ton aide.

Nous voulons exprimer par ces quelques lignes de remerciements notre gratitude envers tous ceux en qui par leurs présences, leurs soutiens, leurs disponibilités et leurs conseils, nous avons eu courage d'accomplir ce travail.

A notre encadreur, Madame Meriem LACHACHI

Vous nous avez fait l'honneur de diriger notre travail et vous nous avez permis, grâce à vos compétences, de le mener à terme. En souvenir d'une agréable collaboration, veuillez recevoir l'expression de notre profonde gratitude et de nos sincères remerciements et reconnaissance, Nous espérons vous satisfaire.

A notre président de jury, Monsieur Sofiane BENYAMINA

Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse, nous vous remercions et vous témoignons notre profonde et respectueuse reconnaissance.

A notre examinatrice de jury, Madame Meriem ZARYOUH nous ont marqué leur accord, afin de juger notre travail, vous nous faites l'honneur de participer à ce jury et d'examiner ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

A

Dieu, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.

A

La personne la plus chère à mon coeur : Maman Nadjet qui m'a supportée vaillamment pas à pas tout au long de ma vie, Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale. Tu es la seule qui comprend ma vie: Je te demande pardon et encore une fois Merci.

A

Mon cher père Hamid qui m'a toujours fort encouragé et aider durant tout mon parcours avec beaucoup de tendresse de dévouement de gentillesse d'amour.

A

Mon grand-père et mon deuxième père Tahar et ma deuxième mère Fatna qui m'avoit soutenue, encouragée et conseillée.

A

Mes chers frères : Sofiane et Samir.

A

Mes chers tantes et mes chers oncles et leurs femmes

A

Mes chers cousins et cousines : Madjid, Yacine, Zakaria, Boucif, Abbes, Abdrezak.Khadidja, Sarra, Kheira, Ritaj, kheira2, Samia, Leila, Amina, Yasmine.

A

Toutes mes amies en particulier Wissem, Mokhtaria, Naffissa, Ikram, Sarra, Fatima, Imene, Amina, Zoubida, Hidayet, Nouara.

A

Mon cher binôme Amina.

Imène

Dédicace

Je dédie ce modeste travail,

*A mes parents, Pour leur soutien permanent dans mes études et dans ma Vie,
leur confiance en moi, leur encouragements, et leur amour, que dieu leur garde
dans son vaste paradis.*

*A l'homme de ma vie, mon soutien moral et source de joie et de bonheur,
celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.*

*A ma tante, l'être le plus cher dans le monde, qui n'a pas cessé de m'orienter
vers la vie de réussite, la source de mes efforts et la flamme de mon cœur Merci
chère tante.*

*A mon chère petit frère Walid, qui m'a donné un sens à ma vie, et que ce
travail soit pour vous un exemple à suivre.*

*A mes moitiés Imène, Fatima, Ikram et Sarra, vous êtes plus que des amies,
merci infiniment mes sœurs pour votre encouragement, votre soutien et amour
tout au long notre connaissance.*

*A mes collègues Hidayat, zoubida, Amina, Imène, Malika et Rabie, notre
collaboration a été pour moi une expérience à la hauteur, et mon chère binôme
Imène, merci pour les bons moments*

*A ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce travail:
mes chères proches ainsi que la famille **Boudieb**.*

Amina

TABLE DES MATIERES

Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 1: La résistance bactérienne

1. La résistance bactérienne.....	3
2. Type de résistance.....	3
2.1. La résistance naturelle ou résistance intrinsèque.....	4
2.2. La résistance acquise.....	4
2.2.1. Résistance par mutation chromosomique	4
2.2.2. Résistance par acquisition de gènes	4
3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques	5
4. Méthode de mesure de la résistance bactérienne.....	5

Chapitre 2: les Antibiotiques

1. Types des antibiotiques	6
1.1. Origine naturelle	6
1.2. Origine synthétique	6
2. Classification des antibiotiques.....	7
2.1. β - lactamines.....	7
2.2. Glycopeptides.....	8
2.3. Aminosides	8
2.4. Macrolides	9
2.5. Quinolones.....	9

Chapitre 03: Les entérobactéries productrices des β -Lactamases à spectre élargi

1. Les entérobactéries	10
2. Les β -Lactamases à spectre élargie	12
3. Les facteurs de risques	13

Deuxième partie : Matériels et méthodes

1. Lieu d'étude	15
2. Prélèvement	15
3. Isolement et identification	16
4. Identification des entérobactéries.....	16
4.1. Coloration de gram.....	16
4.2. Galerie Api 20 E	17
4.3. Antibiogramme	17
4.4. Test de synergie	17
5. Conservation des souches	18

Troisième partie : Résultats et discussion

1. Prélèvement	19
2. Isolement et Identification	20
2.1. Les entérobactéries.....	20
3. Etude de la résistance aux antibiotiques	25
Conclusion générale	35
Références bibliographiques.....	37

Liste des abréviations :

CVP : cathéter veineux périphérique

AMP : Ampicilline

TOB: Tabramicine

CIP : Ciprofloxacine

IPM : Imipenème

C : Chloramphénicol

BMR : bactéries multi-résistantes

TET : tétracycline

ATB : Antibiotique

CTX-M : Céfotaximase-Munich

TEM : TEMoneira- nom du patient

SHV : SulfHydryl Variable

OXA : Oxacillinase

LPS : lipo-polysaccharide

CHU : Centre hospitalo-universitaire

CA-SFM : Comité d'antibiogramme- société française de microbiologie

BN : Bouillon nutritif

BLSE : Bêta- lactamase à spectre Elargi ou Etendu

BGN : Bacilles à Gram négatif

LAAPSAB : Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques

IAS : Infection associée aux soins

OMS : Organisation mondial de santé

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : structure des pénicillines (haut) et des céphalosporines (bas). (le cycle bêta-lactame est en rouge)	7
Figure 2 : la structure chimiques des vancomycines	8
Figure 3 : la structure chimique des aminosides	8
Figure 4 : la structure chimique d'érythromycine.....	9
Figure 5 : la structure chimique des quinolones.....	9
Figure 6: Laboratoire pédagogique au niveau du CUAT.	15
Figure 7 : la collecte des CVP	16
Figure 8 : l'aspect macroscopique des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	21
Figure 9: l'aspect macroscopique de la souche d' <i>Escherichia coli</i>	21
Figure 10: l'aspect macroscopique de la souche d' <i>Enterobacter cloacae</i>	22
Figure 11: l'aspect macroscopique de la souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	22
Figure 12: Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x100). 23	
Figure 13: Résultat de l'identification par la galerie Api 20 ^E d' <i>Acinetobacter baumannii</i> 23	
Figure 14: Résultat de l'identification par la galerie Api 20 ^E d' <i>Enterobacter aerogenes</i> . 23	
Figure 15: Répartition de l'ensemble des espèces d'entérobactéries isolées	24
Figure 16: Résultat d'antibiogramme de la souche d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	26
Figure 17: Résultat d'antibiogramme de la souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
Figure 18 : Résultat d'antibiogramme de la souche <i>Escherichia coli</i>	27
Figure 19: Résultat d'antibiogramme de la souche <i>Enterobacter cloacae</i>	27

Figure 20: le pourcentage de résistance de six souches *d'Acinetobacter baumannii* isolées a chaque antibiotique utilisé..... 28

Figure 21: le pourcentage de la résistance des 9 souches d'entérobactéries isolées a chaque antibiotique utilisé..... 29

Figure 22 : Résultat de test de synergie 33

LISTE DES TABLEAUX:

Tableau I : Répartition des prélèvements des patients selon les services. 19

La découverte des antibiotiques au début du XXe siècle a constitué une véritable révolution dans le domaine médical (**Monnet, 2000**).

Au cours des cinquantes dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses infections et maladies. Cependant, avec leur utilisation croissante et parfois injustifiée, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et devenir résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et le nombre des bactéries résistantes est sans cesse d'augmentation avec l'émergence de nouvelles résistances (**Boukhatem, 2013**)

L'OMS estime qu'entre 5 et 12 % des patients hospitalisés développent dans le monde une infection nosocomiale associée aux soins (IAS) dont plus de 60 % sont dues à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgical (**Ebrey et al., 2004**)

L'utilisation massive des antibiotiques à l'hôpital détermine une pression de sélection formidable favorisant l'émergence des bactéries multirésistantes (BMR).

Les bactéries multirésistantes (BMR), de part leur fréquence sans cesse de croissante, leur prévalence varie en fonction du pays, de l'unité d'hospitalisation et même de l'hôpital, la gravité des infections qu'elles provoquent représentent une grande menace aussi bien dans les pays développés que dans les pays pauvres en ressources (**Alexandra et al., 2007 ; Monnet, 2000**)

L'émergence de ces bactéries résistantes aux antibiotiques est le plus souvent le résultat d'un mécanisme en deux temps qui associe d'abord la sélection des bactéries commensales résistantes puis le transfert horizontal de résistance entre diverses espèces bactériennes dont certaines peuvent être pathogènes (**Skurnik, 2006**). Le réservoir essentiel de ces bactéries est généralement l'hôpital où se trouvent réunies toutes les conditions favorables à leur émergence et leur dissémination.

La résistance bactérienne aux antimicrobiens est un phénomène qui n'est ni nouveau ni surprenant ancien que l'apparition des antibiotiques (**Lozniewski et al., 2010**)

Après plus d'un demi-siècle d'utilisation des antibiotiques, l'émergence, la dissémination et la progression de la résistance bactérienne aux antibiotiques causent des infections difficiles à traiter et posent un problème de santé important dont la maîtrise constitue un défi majeur

pour les cliniciens, les microbiologistes, les hygiénistes et les autorités sanitaires (**Bertrand et al., 1998**)

Tout usage d'antibiotique, qu'il soit approprié ou non, exerce donc une pression sélective sur les colonies bactériennes. Toutefois, plus les antibiotiques seront mal utilisés, plus la pression sélective sera forte (**Guide pharmaceutique PSF-CI, 2003**)

Les deux facteurs essentiels au développement des résistances bactériennes sont, d'une part, l'usage abusif des antibiotiques, favorisant la sélection des bactéries les plus résistantes, et d'autre part, une insuffisance des pratiques d'hygiène en particulier le lavage des mains.

Aujourd'hui Cette résistance reste un problème majeur de santé publique, la situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, où certains bacilles à Gram négatif tels que les entérobactéries *qui* sont souvent responsables d'infections dues à des souches multi-résistantes (**Soussy, 2007**).

C'est dans cet objet que notre travail a été porté sur :

- ✓ La détermination du risque d'infection lié aux cathéters veineux périphériques prélevés chez les patients .
- ✓ Isolement et identification des bactéries résistantes aux antibiotiques telles que *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli*
- ✓ L'étude de leurs profils de résistance aux certains antibiotiques .

Chapitre 1 : La résistance bactérienne

1. La résistance bactérienne:

Elle résulte de l'aptitude de certaines bactéries à supporter l'attaque des antibiotiques, de sorte que les traitements classiques deviennent inefficaces et que les infections persistent et accroissent le risque de propagation (OMS, 2015).

Il existe plusieurs approches et définitions de la résistance, L'organisation mondiale de la santé a défini la résistance bactérienne aux antibiotiques dès 1961 de deux façons différentes :

- **Définition thérapeutique** : Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable in vivo.

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

- **Définition génétique** : Une bactérie est dite « résistante » quand elle héberge des gènes codant pour cette résistance, ce qui se traduit comme un changement dans le code génétique du micro-organisme, codant ainsi un gène altéré.

- **Définition clinique** : Une bactérie est dite « résistante » quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc.) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique. (Haskouri, 2002)

1. Type de résistance

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 (Azerbaijan, 2011)

On distingue deux types de résistance aux antibiotiques, naturelle et acquise :

1.1. La résistance naturelle ou résistance intrinsèque :

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les souches de l'espèce considérée. Elle est stable , transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) (**Lozniexski *et al.* , 2010**)

1.2. La résistance acquise

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée , normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (**Aboya moroh , 2013**).

1.2.1. Résistance par mutation chromosomique :

Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont induites par des modifications structurales pouvant se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques , soit en rendant les cibles spécifiques des antibiotiques indifférentes. La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels. Elle possède un caractère aléatoire car l'antibiotique n'est pas une molécule mutagène donc n'induit pas de mutation chez la bactérie. Cependant l'antibiotique participe à la sélection des bactéries mutantes. On note aussi son caractère spécifique (affecte un antibiotique ou une famille d'antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action) , son indépendance et son absence de transmissibilité (**Courvalin *et al.* ,2001**)

1.2.2. Résistance par acquisition de gènes :

Il s'agit ici de la résistance par un gain d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un plasmidique. Le plasmide est un fragment d'ADN extra chromosomique (présent dans le cytoplasme) et qui peut porter un ou plusieurs gènes de résistance. Ces fragments d'ADN peuvent être transmis d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse ; cette transmission peut se faire entre deux espèces différentes de bactéries. A travers ce mécanisme , on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur) , la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la

conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (**Baudry et Brezellec, 2006**).

2. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

Une bactérie peut **modifier la cible de l'antibiotique**. Ce changement peut porter sur la structure même de la cible ou sur le développement d'une voie métabolique alternative. Il fait entrer en jeu les ribosomes, les parois ou les enzymes ADN (Par exemple, les macrolides). Ce mécanisme est bien développé par les bactéries Gram négatif qui grâce à des modifications dans les cibles primaires et secondaires parviennent à développer des hauts niveaux de résistance.

Les bactéries peuvent aussi utiliser **l'inactivation enzymatique** via la production d'enzymes en détruisant ou modifiant l'antibiotique. Ce dernier ne peut plus se fixer sur sa cible. Cette modification enzymatique est un des mécanismes de résistance aux β -lactamines, macrolides, aminosides et chloramphénicol (**Guerin, 2010 ; Collectif, 2008 ; Scott, 2009**).

Le dernier mécanisme d'acquisition de la résistance est **l'inaccessibilité à la cible**. Il consiste à la diminution de la perméabilité membranaire ou le **phénomène d'efflux**. Cette modification peut passer par une mutation des gènes codant les porines membranaires. Ces dernières contrôlent les molécules passant la paroi. Elles constituent la porte d'entrée des antibiotiques.

La modification des porines passe souvent par une réduction de leur taille empêchant ainsi le passage des antibiotiques. Cette stratégie est particulièrement développée par les bactéries Gram négatif et concerne de multiples antibiotiques. Les bactéries développent aussi des mécanismes actifs de rejet des antibiotiques via des pompes membranaires. Ce type de résistance concerne plusieurs familles d'antibiotiques dont les β -lactamines, les tétracyclines, les macrolides et les fluoroquinolones (**Guérin Faublée, 2010 ; Collectif, 2008 ; Scott, 2009**).

3. Méthode de mesure de la résistance bactérienne

Pour mesurer microbiologiquement la résistance d'une bactérie, la notion communément utilisée dans le monde scientifique est l'antibiogramme.

L'interprétation de l'antibiogramme repose sur l'évaluation du diamètre d'inhibition. Cet outil permet de prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques en matière d'efficacité clinique. Ainsi, une souche pathogène peut être catégorisée cliniquement de sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R).

L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence des résistances naturelles (Julie, 2014)

Chapitre 2 : les antibiotiques

I. les antibiotiques

La découverte des antibiotiques fut un réel tournant pour la thérapeutique des maladies infectieuses humaines et animales. Cependant, très rapidement après le début de leur utilisation, des phénomènes de résistance ont été détectés chez les bactéries pathogènes. Cette partie s'articule en deux axes. Tout d'abord, nous nous attacherons à définir l'antibiorésistance et à comprendre ses mécanismes de support et de transmission. Ensuite, nous nous intéresserons à ses enjeux afin de comprendre pourquoi ce problème est au centre des discussions scientifiques et politiques actuelles.

Le terme « antibiotique » fut proposé en 1941 par Waksman pour désigner toute substance chimique produite par un micro-organisme et capable d'inhiber le développement ou de détruire d'autres micro-organismes (Courvalin *et al.*, 2001)

1. Types des antibiotiques : selon leur origine on distingue

1.1. Origine naturelle : Parmi les 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde, 20 % proviennent de champignons (*Penicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*), 70% proviennent d'actinomycètes microfilaments dont le genre *Streptomyces* est un producteur majeur d'antibiotiques (tétracyclines, aminoglycosides) et 10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes) (Mehdi, 2008)

1.2. Origine synthétique : Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir des dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue : Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluoroquinolones, pénèmes (Mehdi, 2008)

2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine , la nature chimique , le spectre d'activité et le mécanisme d'action (**Laurent ,2009**)

Selon leur mode d'action , les antibiotiques sont classés en 5 groupes :

1.1. β - lactamines

Les bêtalactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibiothérapie. Ils représentent une vaste famille d'antibiotiques bactéricides qui possèdent comme structure de base le cycle bêta-lactame (voir la figure 1). (**Laurent ,2009**)

Ces antibiotiques agissent sur la paroi bactérienne et ne sont actifs que sur les germes qui sont en croissance. Les cellules au repos ne sont pas perturbées par l'action des antibiotiques et de leurs molécules. Ils cassent alors cette paroi pour tuer la bactérie. Ils sont donc des antibiotiques **bactéricides** (**Mehdi , 2008**).

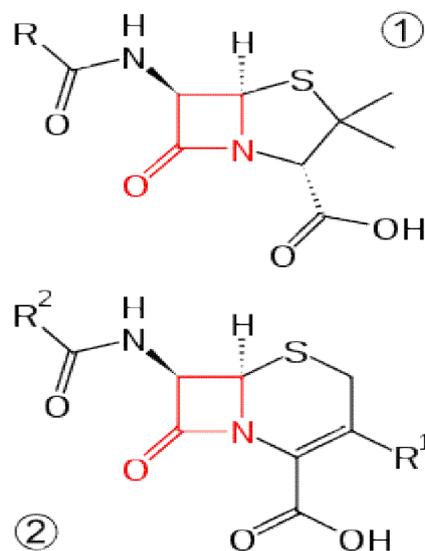


Figure 1: structure des pénicillines (haut) et des céphalosporines (bas).

(le cycle bêta-lactame est en rouge)

1.2. Glycopeptides

Les antibiotiques importants que renferme cette famille sont la Vancomycine et Teicoplanine. Ces deux molécules n'agissent que sur les bactéries à Gram positif en inhibant la synthèse du peptidoglycane et donc la croissance des bactéries (**Mouto *et al.* , 2000**)

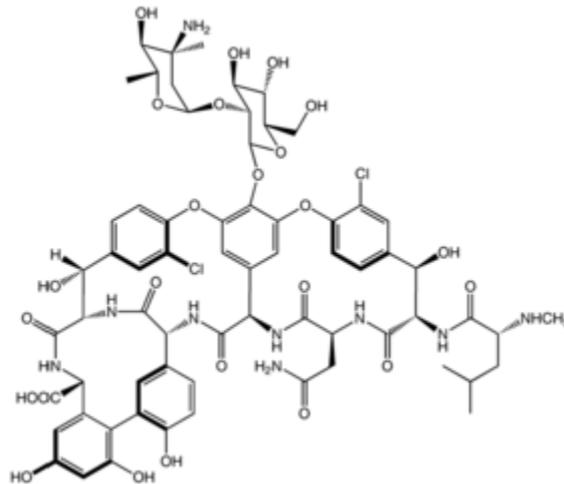


Figure2 : la structure chimique des vancomycines

1.3. Aminosides

Leur structure est à base des sucres aminés (voir la figure 3). Les principales molécules sont : Streptomycine , Gentamicine , Netilmicine , Tobramycine , Amikacine. Se sont des antibiotiques bactéricides. Ils se fixent de façon irréversible sur le ribosome des bactéries et inhibent la traduction en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messenger. (**Archambaud , 2009**)

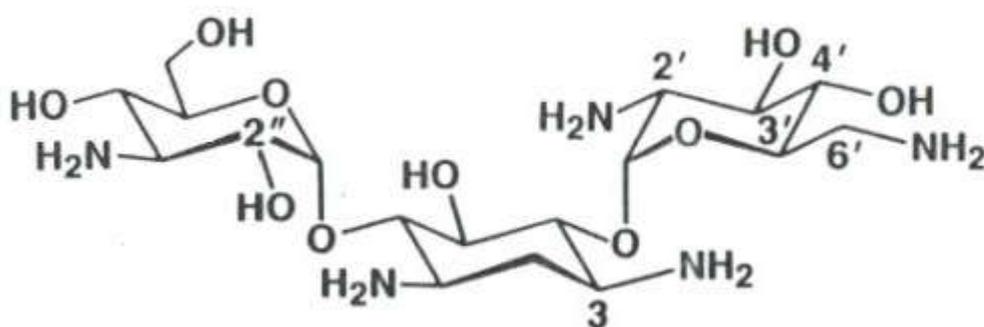


Figure 3 : la structure chimique des aminosides

1.4. Macrolides

Les antibiotiques macrolides sont caractérisés par le cycle lactone relié aux molécules de sucres .Il y a une grande variété d'antibiotiques macrolides , le plus connu est l'érythromycine. Il est un inhibiteur de synthèse de protéine au niveau de la sous-unité 50S du ribosome (bactériostatiques). (Madigan et Martinko ,2007)

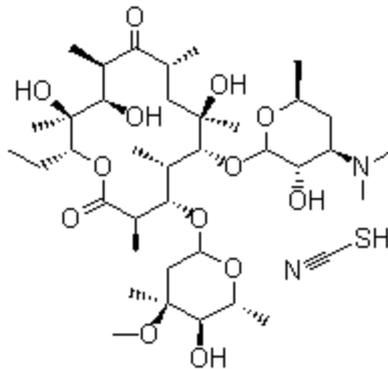


Figure 4 : la structure chimique d'érythromycine

1.5. Quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides à large spectre.

Ils sont très efficaces contre les bactéries entériques comme *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Ils sont utilisés dans le traitement des infections du système urinaire. (Prescott et al. ,2007)

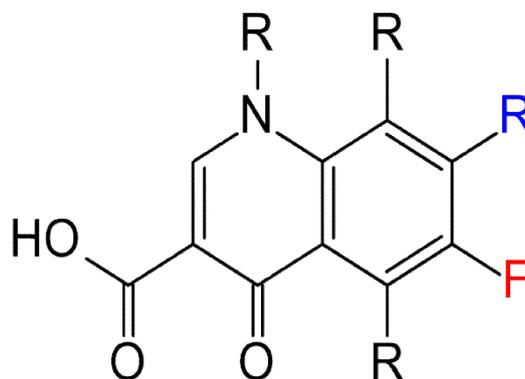


Figure 5 : la structure chimique des quinolones

Chapitre 3 : Les entérobactéries productrices des β -Lactamases à spectre élargi

1. Les entérobactéries :

Les entérobactéries constituent une famille très hétérogène de bactéries Gram-négatif pour ce qui est de leur pathogénicité. Les espèces qui composent cette famille sont , en effet , soit parasites , soit commensales (*Escherichia coli* , *Klebsiella sp*) , soit encore saprophytes (*Serratia sp* , *Enterobacter sp*) (**Cartier et Moevi , 2007**) , (**Denis et al. , 1998**).

Elles se composent d'environ 30 genres des 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 d'un gaz (**Joly et Reynaud. , 2007**)

Escherichia coli est une entérobactérie commensale du tube digestif , elle représente 80 % de la flore aérobie de l'intestin (**Bernar , 1999**). 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* 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. 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 des syndromes majeurs résultent de l'infection par des souches d'*Escherichia coli* pathogènes : infections urinaires (impliqué dans 80 % des infections urinaires) , les infections digestives (diarrhées , infections hépatobiliaires et autres) , et les méningites néonatales et septicémies (**Jaureguy ,2009**).

Klebsiella pneumoniae est une entérobactérie qui fait partie des espèces commensales , c'est-à-dire des flores normales du sujet sain (**Kariuki et al. ,2007**). Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif , immobiles , non sporulés , anaérobies facultatifs et appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae (**El Fertas-Aissani et al. ,2012 ; Srinivasan et al. ,2012**). Ce sont des bactéries d'aspect muqueux des colonies , ayant une oxydase négative , nitrate réductase positive , uréase positive , Réaction de Voges-

Proskauer positive (VP+) et qui fermente le glucose avec production d'un gaz (**Janda et Abbott. ,2006**).

Klebsiella pneumoniae est responsable d'infections diverses : infections suppuratives , urinaires , respiratoires , biliaires , hépatiques intra-abdominales , bactériémies , septicémies , fascistes nécrosantes etc. ...et elle est responsable d'environ 10% des infections nosocomiales (**Chung et al. ,1992 ; Podschum et al. ,1998**).

Enterobacter cloacae sont des espèces du genre Enterobacter qui font partie de la famille des Enterobacteriaceae. Celui-ci constitue un grand groupe des bactéries ayant une forte similitude (**Hart ,2006 ; Paterson et al. ,2005**).se sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles , fermentent ou non le lactose et ils ont une β -galactosidase (**Fauchère et Avril. , 2002**). Ils produisent un acide à partir de la fermentation du glucose et donnent une réaction négative à l'épreuve au rouge de méthyle et une réaction positive au test de Voges-Proskauer ; leur température optimale de croissance est de 30 °C (**Hart ,2006**).

E. cloacae est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales et colonise généralement la flore intestinale endogène des patients hospitalisés , mais peut également se trouver comme source d'épidémie ou de diffusion de patient à patient (**Qureshi et al. ,2011**).Ces bactéries peuvent causer de nombreux types d'infections comme les infections des voies urinaires et des infections de la cavité abdominale ou des intestins (**Farmer et al. ,2007**).

Acinetobacter baumannii est un coccobacille à Gram négatif. Elle est considérée comme une bactérie ubiquitaire , pouvant être isolée à partir du sol , de l'eau , des animaux et de l'homme et capable d'utiliser une grande variété de substrats comme source d'énergie (**Zahoun et al. ,2010**).

A. baumannii s'est imposé comme un pathogène hospitalier , responsable de nombreuses infections nosocomiales sévères , causant de réelles difficultés thérapeutiques du fait de sa capacité à développer plusieurs mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques (**Baron et al. ,1995**).

Chez l'homme , elle peut coloniser la peau , les plaies et les tractus aériens et digestifs , elle peut résister la dessiccation pendant plusieurs semaines (**Marrakchi , 2008**).

On observe surtout des infections pulmonaires chez des patients sous ventilation assistée , des infections urinaires sur sonde et des infections liées aux cathéters avec le risque de septicémie.

De manière générale , les entérobactéries sont les plus redoutables car elles ont la capacité de développer des mécanismes de résistance aux antibiotiques.

2. Les β -Lactamases à spectre élargi :

Chez les entérobactéries , le mécanisme de la résistance bactérienne aux β -lactamines est l'inactivation enzymatique par production d'enzyme appelées les β -lactamases , notamment les β -lactamases à spectre élargi (**Philippon , Arlet. ,2006 ; Arlet et Philippon , 2003**)

La première mise en évidence des β -lactamases remonte au début des années 40 (**Abraham et Chain , 1940**). Elles ont été décrites pour la première fois sur des souches *d'E. Coli* et de *Klebsiella pneumoniae* (**Datta et Kontomichalou , 1965 ; Medeiros , 1984 ; Bradford , 2001**)

Les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) sont une grande famille très hétérogène d'enzymes bactériennes. Elles sont induites soit par des plasmides (fréquents) , soit par la mutation du génome naturel chez *Klebsiella spp* , codant pour une bêtalactamase SHV (**Paterson et Bonomo. ,2005**)

Les β -lactamases constituent un mécanisme de résistance très efficace , elles sont capables d'hydrolyser les pénicillines , les céphalosporines de 1ère , 2 ème , 3ème (céfotaxime , ceftriaxone , ceftazidime) et 4ème génération (céfépime , cefpirome) et les monobactames (aztréonam).

Les souches d'entérobactéries productrices de BLSE restent généralement sensibles aux céphamycines (céfoxitine , céfotétan) et aux carbapénèmes (imipénème , ertapénème) et sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases , comme l'acide clavulanique (**Paterson et Bonomo. , 2005 ; Livermore ,2008 ; Philippon ,2013**)

L'inactivation de la plupart des β -lactamines se fait par ouverture du cycle bêtalactame dont les B-lactamases vont hydrolyser la liaison amide du cycle pour donner un acyl-enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (**Livermor , 1995**)

De nombreuses classifications existent , qui prennent comme critères : le phénotype , la nature du site actif , la séquence d'acide aminé , les caractéristiques physiques et l'origine **(Vidon et Bourdin. , 2005)**.

Les β -lactamases sont réparties en 4 classes (A-D) selon la classification d'Ambler.

- Classe A : Ces enzymes sont caractérisées par une résistance à haut niveau aux pénicillines et par une sensibilité à l'acide clavulanique et le tazobactam (inhibiteurs de β -lactamases) **(Arlet et Philippon. , 2003)**.

- Classe B : Ces enzymes sont généralement actives contre les carbapénèmes et contre d'autre β -lactamines **(Grall et al. , 2011)**.

- Classe C : constituée de céphalosporinases. Ces enzymes confèrent aux bactéries productrices une forte résistance aux céphalosporines de première génération et à un degré variable aux céphalosporines de deuxième génération **(Bryskier , 1999)**.

- Classe D : regroupe les pénicillinases de type oxacillinases (OXA) **(Grall et al. , 2011)**. Ces enzymes confèrent la résistance à l'ampicilline et la céfalotine et sont caractérisés par leur forte activité hydrolytique contre l'oxacilline et la cloxacilline **(Varsha , 2007)**

La classification fonctionnelle de Bush , Jacoby et Medeiros (Bush et al.) repose sur l'activité hydrolytique (nature du substrat) et la sensibilité aux inhibiteurs (profil d'inhibition) des β -lactamases à spectre élargi **(Bush et Jacoby. , 1995 ; Ruppé , 2010)**

Il existe actuellement plusieurs types différents de BLSE codées par des plasmides ; elles sont classées selon leurs types moléculaires , les plus fréquents étant les types TEM , SHV , CTX-M **(Jacoby et Munoz-Price. , 2005)**. Ces enzymes (TEM , SHV , CTX-M et dérivés) confèrent aux entérobactéries la résistance à l'ensemble des bêtalactamines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes en plus d'une résistance associée à d'autres familles d'antibiotiques **(Bradford ,2001)**

3. Les facteurs de risque :

Les facteurs de risques d'acquisition d'une entérobactérie BLSE sont nombreux donc sont rencontrés en milieu communautaire et en milieu hospitalier.

En général , l'acquisition des bactéries productrices des BLSE concerne des patients gravement malades , suite à une hospitalisation prolongée et après un contact avec des dispositifs invasifs (cathéters veineux , sonde urinaire ou tube endotrachéal).Pour d'autres facteurs de risque sont la malnutrition , l'hémodialyse , la nutrition parentérale totale , l'admission en réanimation ou l'hospitalisation préalable (**Gautier , 2007**)

Le majeur facteur est l'utilisation accrue des antibiotiques de type céphalosporines de 3ème génération (**Sirot , 1989**)

1. Lieu d'étude :

Notre travail a été réalisé au laboratoire pédagogique de notre centre universitaire Belhadj Bouchaib- Ain Témouchent (voir figure 6).



Figure 6: Laboratoire pédagogique au niveau du CUAT.

2. Prélèvement

Les prélèvements ont été collectés au niveau des deux différents services (service de cardio ; service de médecine interne) correspondaient aux sites de colonisation cathéters veineux périphériques CVP.

Certaines données épidémiologiques comme l'âge, le sexe et l'origine de service ont été relevées en premier temps pour chaque patient. Tous les patients hospitalisés plus de 48 heures ont été inclus dans l'étude.

Les cathéters veineux périphériques CVP des patients hospitalisés plus de 48 heures ont été collectés aseptiquement et placés dans des tubes secs stériles puis acheminés au laboratoire pour l'analyse (voir figure 7).



Figure 7 : la collecte des CVP

3. Isolement et identification :

La préparation des prélèvements a été réalisée selon la méthode de « brun buisson », cette dernière s'agit d'une technique quantitative (**Espinasse *et al.*,2010**). Et pour cela on prend l'extrémité distale de chaque dispositif, la couper et la mettre dans 5ml de BHIB : Bouillon Cœur Cerveau puis la placer au vortex pendant une minute, un volume de 1 ml est ensemencé sur la gélose nutritive cela pour la confirmation de l'infection liée au cathéter et en même temps sur le milieu sélectif Mac-conkey pour passer à l'isolement des Entérobactéries.

Après la purification des différentes souches bactériennes, l'identification a été réalisée selon l'aspect microscopique; l'aspect macroscopique et l'identification biochimique.

4. Identification des entérobactéries

L'identification comporte une série d'étape, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé. Donc les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards.

4.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram est la coloration de base de la bactériologie, c'est l'examen direct et essentiel pour apprécier la présence et la morphologie des germes et permet de classer les bactéries en deux grandes catégories (Gram + et Gram -).

4.2. La galerie API 20^E

Le système API® Bio Mérieux (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques

Conventionnelles pour entérobactéries et d'autres bacilles à Gram négatif, comprenant 20 tests biochimiques.

Cette version comporte 20 micros tubes contenant des substrats sous forme déshydratée.

Ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les métabolites produits durant la période d'incubation à 37 C° pendant 24h se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

4.3. Antibiogramme

La résistance des souches identifiées aux antibiotiques est évaluée par la méthode de l'antibiogramme selon les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2019).

Cette technique a été effectuée par la méthode de diffusion d'antibiotiques en gélose Muller Hinton.

Les disques d'antibiotiques testés sont les suivants : Ciprofloxacine (Cip), Chloromphénicol (C), Ampicilline (AMP), Tobramicine (TOB), Imipenem (IMP), Tétracycline (TET)

L'interprétation des résultats est effectuée selon les recommandations du Comité de

L'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM 2019).

4.4. Test de synergie

La détection de la production des B-lactamases à spectre étendu, est basée sur la mise en évidence d'une image de synergie entre un disque de l'amoxicilline et de céftazidine (Philippon et Arlet., 2006).

- **Technique**

Sur une gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée par la souche à tester, appliquer des disques de ceftazidime et d'amoxicilline + acide clavulanique à une distance de 2 cm (centre à centre) (**Jarlier et al., 1988**).

Lecture

La positivité de ce test est matérialisée par un aspect dit « bouchon de champagne» (**Sirof, 1996**).

5. Conservation des souches

Les souches ont été conservées dans des tubes de gélose nutritive inclinés à une température de 4°C dans les quelles les souches pures sont repiqués. (Ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie dans des conditions peu favorables pour leur multiplication).

1. Prélèvement :

Durant une période d'étude allant de Février au mois de Mars 2019, un total de 19 prélèvements de cathéters veineux périphériques ont été prélevés chez 19 patients hospitalisés de 2 à 3 jours au sein de deux services : médecine interne et cardiologie médical de l'Hôpital Benzardjeb d'Ain Temouchent

Tableau I : Répartition des prélèvements des patients selon les services.

Les services	Nombre de prélèvement	Age	Sexe	Pathologies
médecine Interne	12	Varie entre 40 à 70	12 Hommes	Pied diabétique Déséquilibre glycémique et d'acétone
Cardiologie médical	7	Varie entre 38 ans à 60 ans	7 femmes	Infarctus du Myocarde Pace Maker

Une infection sur cathéter est une infection locale ou générale impliquant l'existence d'un abord et de sa colonisation.

Les cathéters veineux périphériques courts sont des dispositifs médicaux stériles introduits dans une veine superficielle par voie percutanée. Ils sont utilisés pour un but diagnostique ou thérapeutique (HAS, 2005).

On se rappelle que selon (**Brun-Buisson et al.,1987**) , la contamination se définit par une culture positive non significative de l'extrémité distale du cathéter, en l'absence de signes locaux ou généraux d'infection, alors que dans le cas d'une colonisation, il s'agit d'une culture significativement positive de l'extrémité distale du cathéter, en l'absence des signes d'infection. En revanche, l'infection liée au cathéter est définie par la présence d'un syndrome septique et d'une culture significativement positive de l'extrémité distale du cathéter. Le seuil de signification est $\geq 10^3$ cellules/ml en culture quantitative.

La comparaison des risques infectieux liés aux différents types de cathéters (centraux ou périphériques, veineux ou artériels) montre que ceux liés aux cathéters veineux périphériques sont les plus faible. Ainsi, ce qui concerne les infections systémiques, les cathéters veineux périphériques courts sont à l'origine de 4 à 8 % des bactériémies nosocomiales (**Coello Ret al., 2003**)

D'après les résultats et suivant la répartition des prélèvements en fonction des services, On constate que le service de la Cardiologie Médicale présente un grand pourcentage des CVP infectés que le service de médecine interne.

2. Isolement et Identification :

A partir des 19 prélèvements, les résultats ont indiqués que seulement 9 souches appartiennent aux entérobactéries ; Ce qui correspond à des fréquences d'isolement de 47.36% .Nos résultats concordent avec ceux obtenus au sein du laboratoire « LAAPSAB » de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen par **Rebhi (2012)**, dont la fréquence d'isolement des entérobactéries est (31,5%).

➤ Les entérobactéries :

Pour l'identification des entérobactéries, 9 souches ont été isolées et identifiées selon leur aspect macroscopique sur le milieu sélectif de Mac Conkey, et selon leur aspect microscopique qui indique que ce sont des bacilles à Gram négatifs, et leur étude biochimique par la galerie API 20^E.



Figure 8 : l'aspect macroscopique des souches d'*Acinetobacter baumannii*



Figure 9: l'aspect macroscopique de la souche d'*Escherichia coli*

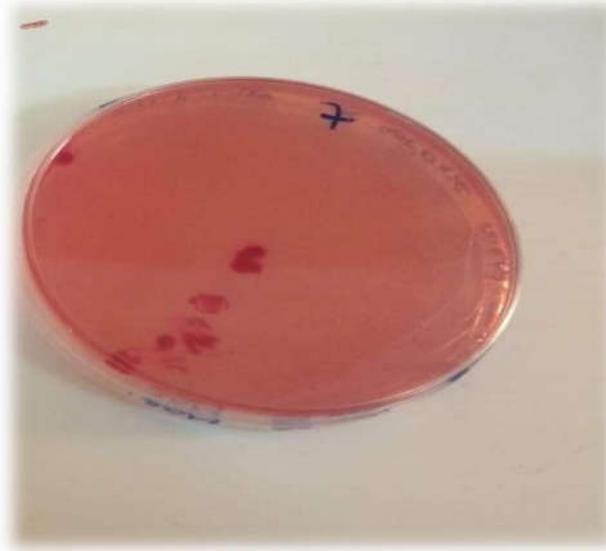


Figure 10: l'aspect macroscopique de la souche d'*Enterobacter cloacae*



Figure 11: l'aspect macroscopique de la souche de *Klebsiella pneumoniae*

La coloration de Gram des colonies isolées, a confirmée que c'est des bacilles à Gram négatif colorés en rose souvent incurvés non sporulés.

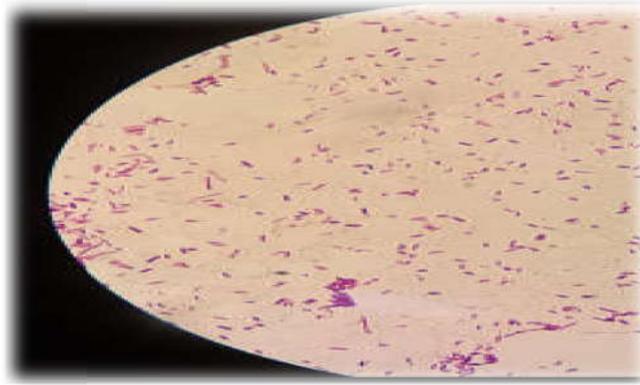


Figure 12: Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x100)



Figure 13: Résultat de l'identification par la galerie Api 20^E d'*Acinetobacter baumannii*



Figure 14: Résultat de l'identification par la galerie Api 20^E d'*Enterobacter aerogenes*

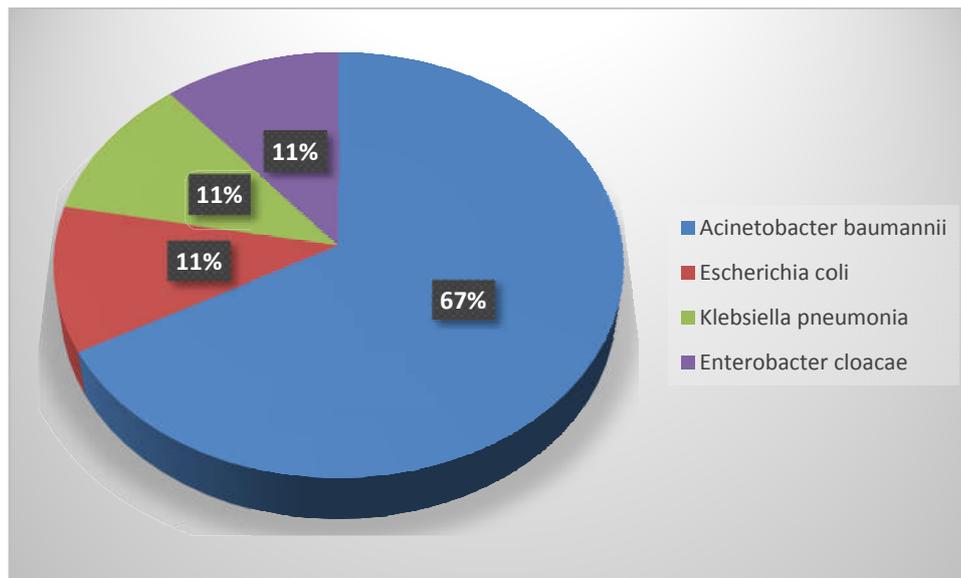


Figure 15: Répartition de l'ensemble des espèces d'entérobactéries isolées

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'entérobactéries isolées, a montré que les *Acinetobacter* occupent la première place avec 6 souches avec une fréquence d'isolement de 67%, ce qui concorde avec ceux obtenus par les études de (**Rabhi, 2012**) et (**Sefraoui, 2011**), avec des fréquences de 61,3% et 65,2% pour *Acinetobacter baumannii*

En Tunisie, l'étude de (**Ben Haj Khalifa, 2010**) montre que 11,2% d'*Acinetobacter baumannii* ont été isolées au niveau de service de réanimation de l'hôpital Tahar Sfar de Mahdia, ainsi qu'une étude de (**Elouennass et al., 2008**) a été effectuée au niveau de service de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed-V au Maroc montre que le taux d'isolement d'*Acinetobacter baumannii* présente 13,64%.

Selon (**Elouennass et al., 2003**) et (**Ben Abdallah et al., 2008**), 5 souches ont été isolées en réanimation, dont 2 souches d'*Acinetobacter baumannii*. Ce germe est le plus incriminé dans ce service.

Nos résultats concordent avec les données d'une étude marocaine décrivant l'importance de cette espèce surtout en unité de soins intensifs (**Elouennass, 2003**).

Pour les entérobactéries étudiées, nos résultats révèlent l'isolement d'une seule souche de *Klebsiella pneumoniae* (11.11%), d'*Escherichia coli* (11.1%) et d'*Enterobacter cloacae* (11.11%), par contre une étude en Tunisie (**Messai et al., 2007**), au Maroc (**Sekhsokh et al.,**

2008) et en France (Gardien et al., 1997) ont données des résultats n'est pas similaires que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* étaient les espèces les plus isolées.

Une étude marocaine réalisée à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V à Rabat (Saïdani et al., 1998) a montré la dominance à 50% de *Klebsiella pneumoniae* suivit par *Escherichia coli* et *Acinetobacter baumannii* qui représentent respectivement 32% et 21%.

Une autre étude réalisée au CHU Ibn Rochd (Ezzaki et al., 2013) concernant le service de réanimation a montré une prédominance de *Klebsiella pneumoniae* à 21% et *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* présentant chacun 8%.

Une étude à El Jadida montre qu'*E. coli* représente 80% des isolats, suivi de *klebsiella* (13%) et d'*Enterobacter* (6%) (Nadmi H et al., 2010)

Cependant, (Moutachakkira, 2015) une étude a été réalisée à l'Hôpital mère-enfant au CHU Mohamed VI de Marrakech sur une durée de deux ans, parmi les 406 souches d'entérobactéries, *Escherichia coli* a dominé le profil épidémiologique (55%) suivi de *Klebsiella pneumoniae* (30 %).

Selon plusieurs autres études de (Messai et al., 2007) et (Nadmia et al., 2010), dans l'ensemble des entérobactéries isolées, *Escherichia coli* reste l'espèce la plus fréquente (37.1%), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (21.4%).

En 2013 au Laboratoire de bactériologie des Hôpitaux universitaires de Genève (HUG), Sur 7041 souches cliniques d'entérobactéries isolées, *Escherichia coli* représente 60,5% suivi de *Klebsiella pneumoniae* représente 12,8% des isolats.

Selon nos résultats les facteurs de risques qui semblent avoir le plus d'impact sur la survenue des infections sont le sexe, l'âge et la durée de pose du cathéter. Ceci est en accord avec les données de la littérature qui citent la durée du cathétérisme comme l'un des principaux facteurs de risques spécifiques des infections liées aux cathéters (Espinasse et al., 2010).

3. Etude de la résistance aux antibiotiques :

L'antibiogramme est avant tout un outil d'aide à la décision thérapeutique : en catégorisant la bactérie sensible, intermédiaire ou résistante, il guide avec prédictibilité l'antibiothérapie,

contribuant à un gain en morbi-mortalité selon la gravité des infections bactériennes concernées (Caron,2012).

Dans notre étude toutes les souches ont été testées vis-à-vis de 6 molécules d’antibiotiques appartenant à différentes familles.

Au sein des deux services, l’analyse globale des résultats d’antibiogramme a montré une différence de taux de résistance selon les diamètres de résistances qui ont été mesurés.

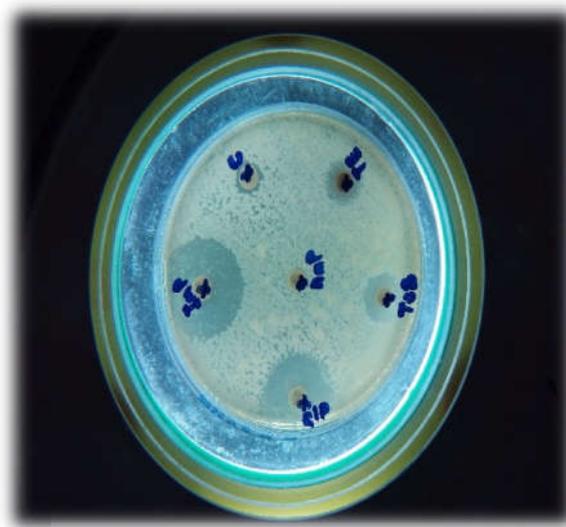


Figure 1 : Résultat d’antibiogramme de la souche d’*Acinetobacter baumannii*

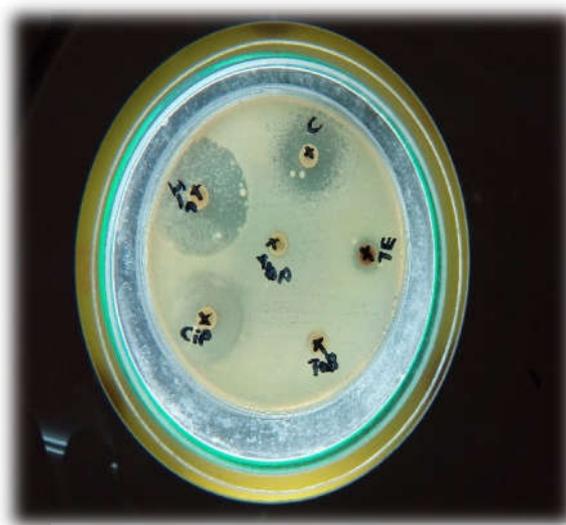


Figure 17: Résultat d’antibiogramme de la souche de *Klebsiella pneumoniae*



Figure 2 : Résultat d'antibiogramme de la souche *Escherichia coli*

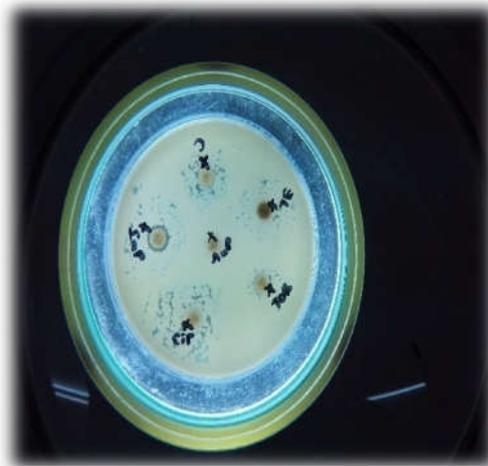


Figure 19: Résultat d'antibiogramme de la souche *Enterobacter cloacae*

Les niveaux des résistances bactériennes varient d'un pays à l'autre et d'une année à l'autre. Aussi, la connaissance de la situation locale et de son évolution sont nécessaires pour le choix de l'antibiothérapie de première intention (El Bakkouri et al., 2009).

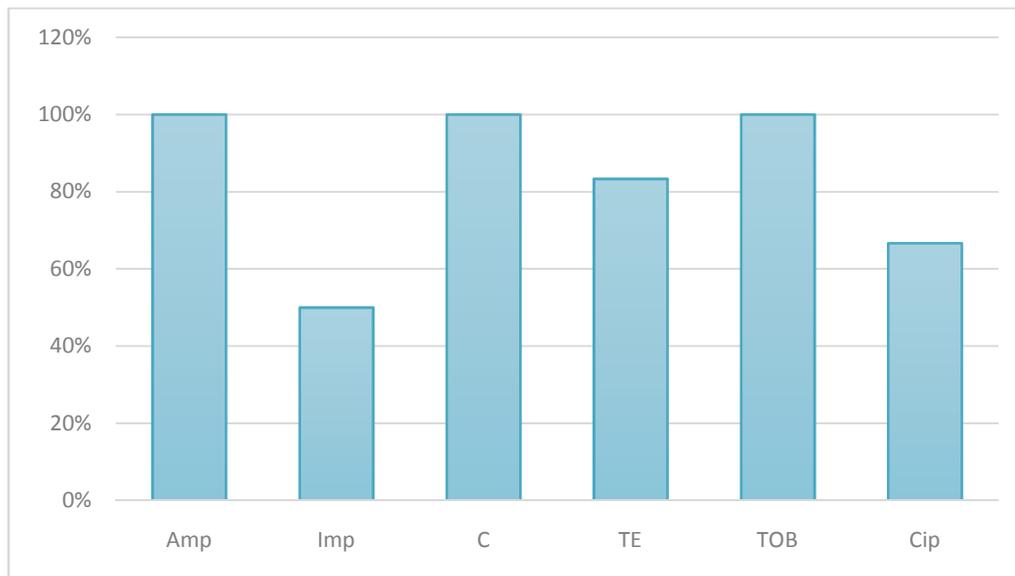


Figure 3: le pourcentage de résistance de six souches *d'Acinetobacter baumannii* isolées a chaque antibiotique utilisé.

Amp : Ampicilline ,Imp :Imipenème ,C :chloramphénicol ,TE : Tétracycline, TOB :Tobramycine, Cip :ciprofloxacine

Sur l'ensemble des souches *d'Acinetobacter baumannii* étudiées, les résultats (figure 15) révèlent une résistance totale (100%) vis-à-vis à l'ampicilline et résistance a l'imipenem avec (50%). Pour les autres antibiotiques, les taux de résistance sont les suivants : Tobramicine (100%), Tétracycline (83.33%), ciprofloxacine (66.66%) et chloramphénicol (100%).

Ces résultats concordent avec celle d'une étude roumaine en 2010 de (**RaduPopescu**) qui rapporte que 93,1 % des souches *d'Acinetobacter baumannii* testées étaient résistantes à ces antibiotiques.

Le réseau de surveillance de la résistance bactérienne tunisien souligne la fréquence de *l'A. baumannii* dans les hôpitaux tunisiens et la problématique posée par sa multi résistance aux antibiotiques dont le taux de résistance à l'Imipenème peut atteindre les 60 % (**Réseau REUSSIR. Acinetobacter baumannii,2012**)

Dans le réseau épidémiologique des utilisateurs du systeme SIR(REUSSIR), la résistance de *l'A.baumannii* à l'Imipénème a augmenté de plus de 20 %(**L'Antibio-Résistance en Tunisie LART Données,2011**)

Selon (**Lahsoune et al., 2007**) la résistance a la ciprofloxacine dépasse les 50%.

En Europe la résistance à la tobramycine est de 41% (Turner et Greenhalgh.,2003)

Plusieurs souches multi résistantes ont été observées. Cette multi résistance peut s’expliquer par le fait que les gènes responsables de ces résistances peuvent être portés par le même plasmide, par la coexistence de plusieurs mécanismes de résistance, ou par la production de plusieurs types enzymatiques (Harbottle et al., 2006; Boerlin et Reid-Smith., 2008 ; Muylaert et Mainil., 2012)

Cette dissémination de la multi résistance et cette diffusion des gènes de résistance sont liées à l’existence d’éléments génétiques mobiles entre bactéries d’une même espèce ou d’espèces différentes, ainsi qu’à l’existence de structures génétiques permettant de cumuler de nombreux gènes de résistance au sein d’une même souche (Skurnik et Andreumont.,2006)

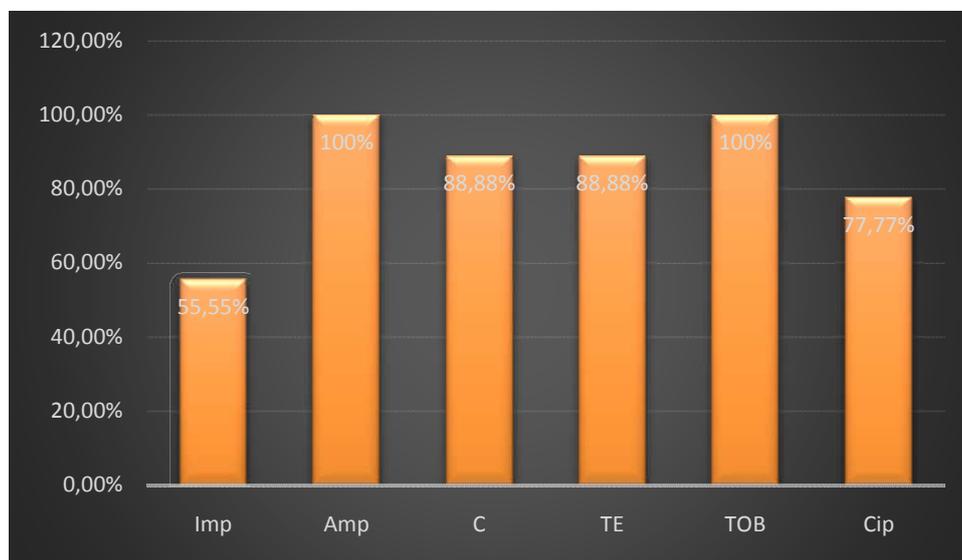


Figure 21: le pourcentage de la résistance des 9 bacilles gram négatifs isolées a chaque antibiotique utilisé

Amp : Ampicilline ,Imp :Imipenème ,C :chloramphénicol ,TE : Tétracycline, TOB :Tobramycine, Cip :ciprofloxacine.

L’analyse du degré de résistance globale des entérobactéries aux différents antibiotiques montre que la totalité des entérobactéries étudiées sont résistantes à au moins un seul antibiotique.

Sur l'ensemble de 9 souches d’entérobactéries étudiées, les résultats (figure 16) révèlent une très bonne activité de l'ampicilline (100%) et une résistance de l’imipinème avec (55.55)%. Pour les autres antibiotiques, Pour les autres antibiotiques, les taux de résistance

sont les suivants : Tobramicine (100%), Tétracycline (88.88%), ciprofloxacine (77.77%) et chloramphénicol (88.88%).

L'analyse du profil de la résistance de la souche *d'Enterobacter Cloacae* par rapport à l'ensemble des souches nous a montré un taux de résistance totale aux (Ampecilline, Tobramicine, Tétracycline, Ciprofloxacine) avec une sensibilité élevée aux (Imipenem, Chloramphenicol.).

Le réseau Algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques AARN a rapporté en 2011 un taux de 27.35% de résistance du genre *Enterobacter* à la ciprofloxacine (**Réseau Algérien de Surveillance, 2011**).

Un rapport du système de surveillance de l'antibiorésistance en Tunisie sortie en 2011, a indiqué que la résistance des souches *d'Enterobacter cloacae* à la ciprofloxacine est estimée à 21.3% (**Boutiba,2015**)

Des résultats du système Tunisien de surveillance de l'antibiorésistance qui a estimé la résistance *d'Enterobacter cloacae* à la tobramycine à 25.9% (**Boutiba,2015**).

L'analyse du profil de la résistance de la souche *Klebsiella pneumoniae* par rapport à l'ensemble des souches nous a montré un taux de résistance totale (100%) aux (Ampecilline, Chloramphenicol, Tétracycline, Tobramicine, Ciprofloxacine, l'imipenem.)

Une étude obtenue par Dia.N a montré que l'imipinème a présenté une forte activité aux souches de *Klebsiella* (**Dia,1998**)

En Tunisie, Boutiba Ben Boubakar Ilhem et al, avait noté une résistance égale à 51.5% au chloramphénicol (**Boutiba,2002**)

Une étude de Koeck avait montré un taux de sensibilité égale à 96.3% de ciprofloxacine (**Koeck,1996**)

A Danemark, quelques cas de résistance ont été notés avec la ciprofloxacine (**Schumacher,2000**)

Selon (**Alemu et al.,2012 ; Jamil et al., 2014 ; Anejo-Okopi et al.,2015 ; Thapa et al.,2015**) la ciprofloxacine montre une résistance de différent pourcentage de 25%, 69%,31,6% et 38,5% respectivement.

Selon (Alemu et al.,2012) le pourcentage de résistance de *Klebsiella* au chloramphénicol présentent 0% de résistance.

Selon (El Mahmood, 2009 et Anejo Okopi et al., 2015 le pourcentage avec 49,5% et 20% de résistance respectivement (El Mahmood, 2009 ; Anejo Okopi et al., 2015)

Concernant la souche *d'E.coli* qui est considéré comme un germe naturellement sensible à de très nombreux antibiotiques.Nous avons trouvé : Une forte résistance 100% a à l'Ampicilline, tetracycline, le Chloramphénicol et la tobramicine, Ciprofloxacine, l'Imipénème).Ces résultats ne concordent pas avec ceux de l'étude réalisée par (Sissoko,2006), et (Ait Miloud Khalid,2011) , pour quelques pourcentages de sensibilités a l'Imipénème (100%), la Ciprofloxacine (57,9%) (Sissoko,2006 ; Ait Miloud Khalid.,2011)

Par contre (Vidoni,2010 et Chafai,2008) ont trouvé des résultats en (90.5%) pour la Ciprofloxacine (Vidoni,2010 ; Chafai,2008)

Pour l'ampicilline le taux de résistance inférieur à celui de centre hospitalier universitaire(CHU) de Mustapha d'Alger 66% rapporté en 2009 (Djennane et al., 2009).

La fréquence de résistance à l'imipénème ne concorde pas avec celle de (Sangeeth et al. ,2014) qui enregistrent 0%.

Selon l'étude (Anejo-Okopi et al., 2015) le taux de résistance au ciprofloxacine est de 31.7%). Par contre une résistance à 100% au ciprofloxacine pour l'étude de (Sangeeth et al., 2014). Et une sensibilité total dans les études de (Alemu et al., 2012).

Les résultats de chloramphénicol ne concordent pas avec ceux de(Alemu et al., 2012) qui sont 0%,mais ils sont inférieurs à ceux de (El Mahmood,2009) et (Anejo-Okopi et al.,2015) qui rapportent un taux de 51,9% et 45% respectivement (Alemu et al., 2012 ; El Ma&hmood,2009 ; Anejo-Okopi et al.,2015)

En 1998, des études menées par Nafissatou Dia ont montré qu'aucune souche d'E coli n'était résistante a la ciprofloxacine (Dia,1998)

En France, V-thien a confirmé que la sensibilité *d'E.coli* a la ciprofloxacine est toujours supérieur à 90%

En 1996, des études menées à Dantec et a Fann ont donné une sensibilité a toutes les souches a la ciprofloxacine.

L'étude de Nafissatou Dia avait trouvé un taux plus élevé 91% avec 9% de résistance des souches à la chloramphénicol (**Dia,1998**)

Des fréquences de sensibilité plus faibles ont été rapportées par la littérature à savoir 50% de chloramphénicol au Mali (**Koumaré,1993**)

Des travaux menés par Decousser J.W et Coll montrent que 28% des souches d'*E.coli* sont résistants au chloramphénicol (**Decousser,1999**)

Au Bénin, Anagonou S.Y a constaté une baisse d'activité du chloramphénicol sur les souches d'*E.coli* (**Anagonou et al.,1994**)

Enfin, La majorité des entérobactéries étaient sensibles à l'imipénème, indiquant sa place en premier choix dans le traitement des infections sévères à bactéries multirésistantes.

4. Détection des BLSE des souches étudiées :

Les bactéries productrices de BLSE constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leur multi résistance aux antibiotiques.

En effet, les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion des bacilles à gram négatif, mais les entérobactéries représentent les germes les plus incriminés.

Le test de synergie a été effectué sur les souches suivantes: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Entérobacter cloacea* et qui englobe les deux antibiotiques suivants: le Céfotaxime et l'Amoxicilline.

Les résultats ont montré que les trois souches présentent un test de synergie négatif, on assiste alors à une résistance très remarquable vis-à-vis l'association amoxicilline + acide clavulanique et Le céfotaxime.



Figure 22 : Résultat de test de synergie

Nos résultats étaient assez différents de ceux retrouvés dans d'autres études nationales où des prévalences élevées ont été rapportées, soit 39.22% à Tlemcen (**Baba Ahmed-Kazi Tani et al.,2013**), et 31.4% à Annaba (**Nedjai et al.,2012**)

Les prévalences de production de BLSE chez *E. coli* et *K. pneumoniae* ont été Observé à des fréquences de 1.3% et 5.6% respectivement trouvées par Barguigua *et al.* (**Barguigua et al., 2011**) au Maroc.

Par contre, ces prévalences sont paraît être inférieures à celles rapportées dans d'autres pays à taux élevés de BLSE , qui apparaissent a des taux élevée comme en Indonésie 18 % et 24% respectivement rapportées par Severin et al. (Severin et al. 2010), et au Mali, où 21% et 37.8% respectivement trouvées par Duval et al. (**Duval et al.,2009**).

Cependant, des taux plus élevés de la prévalence de BLSE produites par le genre *Klebsiella* ont été détectés en Amérique du Sud (45, 4% à 51, 9 %) (**Villegas et al., 2008**) et en Arabie Saoudite (55%) (**Al-Agamy et al., 2009**).

En Iran, la prévalence des *K. pneumoniae* productrices de BLSE était très élevée (72.1%) (**Feizabadi et al., 2010**).

Ainsi Des proportions trouvées dans les pays africains où des taux élevés de BLSE chez *E.Cloacae* ont été rapporté, soit 18.5% au Mali (**Duval et al.,2009**) ces résultats ne concore pas nos résultats.

La fréquence significativement élevée des E-BLSE chez les sujets âgés pourrait être la conséquence de la pression des antibiotiques, de la fragilité de ces patients, de l'utilisation répétée des antibiotiques de la même famille et des infections à répétition (**Vodovar et al.,2013 ;Fouquet et al.,2012**).

Les cathéters veineux périphériques sont des dispositifs médicaux les plus utilisés dans les établissements de santé pour un but diagnostique ou thérapeutique. Les cathéters peuvent être l'origine d'une infection locale ou systémique, potentiellement sévère.

Les bactéries isolées du milieu hospitalier sont des germes opportunistes. , elles sont les agents responsables des infections nosocomiales sévères et d'épidémies qui peuvent entraîner des grandes difficultés de prise en charge pour les patients, avec des situations d'impasse thérapeutique **Nouri et Ziadi (2015)**

Aujourd'hui, la résistance des bactéries aux antibiotiques reste un problème majeur de santé publique. La pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux facteurs conditionnant cette évolution.

Cette résistance aux antibiotiques rend les maladies bactériennes de plus en plus difficiles à traiter avec un risque accru de complications pour le patient et de contagion pour la population.

L'usage abusif et inapproprié des antibiotiques permet aux bactéries de s'y adapter ou ces bactéries deviennent résistance.

L'objectif principal de notre travail est basé sur la résistance des entérobactéries isolées à partir des CVP aux antibiotiques.

Sur l'ensemble des prélèvements effectués au niveau de l'hôpital Benzerdjeb ; 9 souches ont été isolées et identifiées avec une dominance de *Acinetobacter baumannii* (67%) suivies de *Klebsiella pneumoniae* (11%) ; *E. coli* (11%) enfin *Enterobacter cloacae* (11%).

Au cours de notre étude l'isolement de plusieurs souches a montré un taux de résistance très élevée à plusieurs familles d'antibiotiques : (100%) Ampicilline, (11.11%) Imipénème, (66%) Chloramphénicol, (55.55%) tétracycline, (55.55%) ciprofloxacine, (66.66%) Tobramicine.

Une meilleure maîtrise en termes d'hygiène hospitalière (renforcement de la formation du personnel aux règles préventives, précocité du dépistage. . .) et un meilleur contrôle de la consommation d'antibiotiques au sein de l'établissement seraient toutefois des facteurs favorisant une meilleure maîtrise des risques

La lutte contre l'antibio-résistance est devenue une priorité pour de nombreuses organisations de santé, dont l'OMS. Plusieurs politiques de lutte nationales et internationales contre la résistance bactérienne ont été mises en place ces dernières années. Elles prônent notamment une politique de bon usage des antibiotiques, et la promotion de la recherche afin de découvrir de nouveaux antibiotiques.

D'autres solutions sont envisagées, telles qu'un renforcement de la prévention des infections, et le développement de nouvelles thérapies antibactérienne.

En peut aussi limité la sélection des mutants résistant et leur propagation provoquer par l'utilisation inapproprié des antibiotiques a l'aide de certains remèdes tels que la vitamine C et l'huile de lavande.

Notre travail reste préliminaire et l'étude des mécanismes de résistance nécessite le recours à des techniques avancées de biologie moléculaire.

En fin, une étude régulière des isolats et la détermination des sensibilités aux antibiotiques semblent être nécessaires pour mieux guider l'antibiothérapie et préserver l'efficacité des antibiotiques.

En perspective de ce travail il serait très intéressant de déterminer la CMI pour avoir une idée sur le taux de la résistance et d'identifier les gènes responsables de la résistance bactérienne.

- **Anagonou S . Y. , Eslaphazvie J. , et al.,(1994).** Sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif isolés d'infections urinaires au CHU de Cotonou (Bénin) de Mars à Décembre 1992. Bulletin de la société de pathologie exotique, vol. 87, n°4, pp 223-225
- **Alemu. A., Moges. F., Shiferaw. Y., Tafess. K., Kassu. A., Anagaw. B et Agegn. A. (2012);** Bacterial profile and drug susceptibility pattern of urinary tract infection in pregnant women at University of Gondar teaching hospital, Northwest Ethiopia. BMC research notes,5 (197) p. 1-7.
- **Anejo-Okopi. A. J., Okwori. A. E.J., Eze. M.I., Onaji. A.I., Ali. M., Adekwu. A et Ejiji. I.S. (2015),** Prevalence and antibiotic resistance pattern of urinary tract bacterial infections among symptomatic patients attending university of Maiduguri teaching hospital, North East Nigeria. European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences, 3(3) p. 31-41.
- **Alexandra Badura, Gebhard Feierl et al. (2007)** Multidrug Resistant Bacteria in Southeastern Austria. Emerging Infectious Diseases. Vol. 13, No. 8, August. www.cdc.gov/eid
- **Azerbaidjan B,** Plan d'action stratégique européen sur la résistance aux antibiotiques.
- **Aboya Moroh J-L.** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues
- **ARCHAMBAUD. M, 2009.** Laboratoire Bactériologie-Hygiène .CHU Rangueil Toulouse. P 23, 24, 33,34.
- **Abraham, E.P., and Chain, E. (1940).** An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature. 146: 837.
- **Al-Agamy, M.H., Shibl, A.M., and Tawfik, A.F. (2009).** Prevalence and molecular ANTIBIOTIQUES [en ligne]. Encyclopædia Universalis, 2001.
- **Arlet G., Philippon A. (2003).** Les nouvelles β -lactamases à l'aube du troisième millénaire. Revue Française des laboratoires, avril 2003, N°352.aux médicaments.
- **Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., and Monteil, H.(2000).** Bactériologie clinique, Ellipses, Paris. 2ème édition : 171-211.

- **B.Khiev.B., B. Veber.** Patient BMR et risques de contamination et prévention en pré hospitalier et aux urgences
- **Baudry C. Brézellec H.** Microbiologie, immunologie. 2ème édition. Groupe Liaisons,
- **(Guérin-Faublée, 2010 ; Collectif, 2008 ; Scott, 2009)** 2002, 104p. 2002, vol 37, n° 3, pp. 41-49. 2006, 126p. ISBN (2915585261). 409-17.
- **Baba Ahmed-Kazi Tani, Z., Decré, D., Genel, N., Boucherit-Otmani, Z., Arlet, G., and Drissi, M. (2013).** Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial Multidrug-resistant Strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010). *Microbial Drug Resistance*
- **Baraduc, R., Darfeuille-Michaud, A., Forestier, C., Jallat, C., Joly, B., and Livrelly, D. (2000).** *Escherichia coli* et autres *Escherichia*, *Shigella*. Précis de bactériologie clinique. Editions ESKA: 1115-1126.
- **Barguigua, A., El Otmani, F., Talmi, M., Bourjilat, F., Haouzane, F., Zerouali, K., and Timinoumi, M. (2011).** Characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from community in Morocco. *J Med Microbiol.* 60: 1344-1352.
- **Baron E-J, Pfaller M, Tenover F-C, Tenover R-H, Murray P-R. (1995).** Manual of clinical microbiology Graveniz, AV. *Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, and other non-fermentative bacteria. In: Manual of clinical microbiology. Washington DC: American Society for Microbiology. pp 520.
- **Ben Abdallah H., Noomen S., Ben Elhadj Khélifa A., Sahnoun O., Elargoubi A. et Mastouri M. (2008).** Susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in the Monastir region, Tunisia. *Médecine et maladies infectieuses.* 38 :554-556.
- **Ben Haj Khalifa, Khedher M. (2010).** Fréquence et profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures au CHU de Mahdia. *Revue Tunisienne d'Infectiologie.* 3 : 92 – 95.
- **Bernard, Debré Abrégé en urologie. (1999).** beta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive
- **Boerlin P., Reid-Smith R.J. (2008).** Antimicrobial resistance: its emergence and transmission. *Anim. Health Res. Rev.*, 9, 115-126.
- **Bradford, P.A. (2001).** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 14: 933-51. Brest ; Université Félix Houphouët-Boigny, 2013. French.

- **Brun-Buisson C., Abrouk F., Legrand P., Huet Y., Larabi S., Rapin M. (1987).**Diagnosis of central venous catheter-related sepsis : critical level of quantitative tip cultures. *Archives of internal medicine*, 147(5), 873-877.
- **Bryskier A. (1999).** Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ellipses ; Paris. 436-445
- **Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. (1995).**A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* ;39 (6): 1211–33. care unit. *J Clin Microbiol.* 27(12): 2887-2890.
- **Boukhatem. L. (2013)** .Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, Microbiologie , Université AboubekerBelkaid Tlemcen p10
- **Boutiba B. , Ben Salah Dora , Berbes Makram et al ;(2002).** Multirésistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* Etude multicentrique Tunis. *Med.* , vol. 80, n°1, pp 26-28
- **Boutiba. B (24 Février 2015).**Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques , état des lieux en Tunisie, communication à STPI . Tunisie. Repéré à : <http://www.infectiologie.org.tn/pdf/donneesLART11.pdf>
- **Cattoen.C. 13 février(2015).**Persistance du portage de bactéries multi résistantes après la réanimation.
- **Courvalin, P., Denis, F., Ploy, M.C., garilhe, M.P.D., Trieu-Culot, P., and Universalis. (2001)** "Antibiotiques". Retrieved 24Mai, 2013.
- **Courvalin P. Denis F. Ploy M.C. PRIVAT DE GARILHE, M. TRIEUCUOT, P.**
- **Cartier P, Moevi I., (2007).** Le point sur la qualité des carcasses et des viandes de gros bovins. Département Techniques d’Elevage et qualité. Service Qualité des viandes. Compte, 70p.characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. *Ann Saudi Med.* 29(4): 253-257.
- **Coello R, Charlett A, Ward V, Wilson J, Pearson A, Sedgwick J, et al.(2003)** Device-related sources of bacteraemia in English hospitals-- opportunities for the prevention of hospitalacquired bacteraemia. *J Hosp Infect* ; 53(1):46-57.d’accompagnement dans sept élevages, science vétérinaire, école nationale vétérinaire_d’Alfort, 2014, p11
- **Datta, N., and Kontomichalou, P. (1965).**Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 208: 239-241 de *Morinda morindoides*. Agricultural sciences. Université de Bretagne occidentale –

- **Denis F, H. Monteil et al. , (1998).** Bactériologie clinique Edition marketing. Paris.144- 145p.
- **Duval, V., Maiga, I., Maiga, A., Guillard, T., Brasme, L., Forte, D., Madoux, J., Vernet-El Bakkouri J., Belabbes H., Zerouali K., Belaiche A., Messaouidi D., Gros Claude J. D. P. et El Mdaghri N. (2009).** Résistance aux Antibiotiques d'Escherichia coli Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca (Maroc). European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X ; 36 (1) : 49-5.
- **D.L. Monnet. (2000).** Consommation d'antibiotiques et résistance bactérienne. Annales françaises d'anesthésie et de réanimation 19 409-417
- **Decousser J. W., Pfister P. , Xuerez X. , Rakoto, Alson O., Roux J. F.(1999).**Résistances acquises aux antibiotiques à Madagascar : Première évaluation Med. Trop., , vol. 59, n°3, pp259-265
- **Dia N.(1998).** Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes isolées d'hémocultures au CHU Aristide Le Dantec Thèse Pharm., Dakar, n°55
- **Djennane ., Mohammedi ., Tiouit ., Touati et Rahal. (2009).** Examen cyto-bactériologique des urines ECBU, institut pasteur d'Algérie technique microbiologique.
- **El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. (2012).**Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of Klebsiella pneumoniae strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8.
- **Elouennass M, Bajou T, Lemnouer A-H, Foissaud V, Hervé. (2003).** Acinetobacter baumannii : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc. Médecine et maladies infectieuses. 33 : 361-364.
- **Elouennass M, Sahnoun I, Zrara A, Bajjou T, Elhamzaoui S. (2008).** Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002- 2005). Médecine et maladies infectieuses. 38 : 18-24.
- **Elouennass M., Bajou T., Lemnouer A. H., Foissaud V., Hervé V. et Baaj A.J. (2003).**Acinetobacter baumannii: susceptibility of strains identified in the military instruction hospital MohammedV, Rabat, Morocco. Médecine et maladies infectieuses. 33: 361-364
- **Espinasse F., Page B., Cottard-Boulle B. (2010).** Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. Revue francophone des laboratoires (426), 51-63.
- **Ezzaki A., Alem N., Chami S., Acharki I., K.Filali S., Frikh M., Sekhsoukh Y., Chadli M., Lemnouer A., Elouennass M.,(2013).**, 5èmes Journées Scientifiques de la

Société Marocaine de Microbiologie Médicale., profil bactériologique des bactériémies à bactéries multi résistantes à l'hôpital militaire d'instruction mohammed-v (hmimv) rabat.,(1) :1-46.

- **Ebrey R., Hamilton MS et Cairns G. (2004);** Biofilms and hospital-acquired infections. In: Ghannoum M, O'Toole GA, Editor Microbial Biofilms. Washington DC: ASM Press, p. 294-313
- **El Mahmood M. A. (2009) ;** Antibiotic susceptibility Patterns of pathogenic bacteria causing urinary tract infections at the specialist hospital, Yola, Adamawa state, Nigeria. *Journal of Clinical Medicine and Research*, 1(1): p.1-8.
- **Farmer, J.J., Boatwright, K.D., and Janda, J.M. (2007).** Enterobacteriaceae: Introduction and identification. *Manual of Clinical microbiology*. Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: 649-669.
- **FAUCHERE L.et AVRIL J.(2002).**Microbiologie général et médicale. Edition ellipses paris. P 141-319.
- **Feizabadi, M.M., Mahamadi-Yeganeh, S., Mirsalehian, A., Mirafshar, S.M., Mahboobi, M.,**
- **Fouquet M, Morange V, Bruyère F. (2012).**Evolution sur cinq ans des infections à germes produisant une bêta-lactamase à spectre étendu. *Prog Urol.*;22(1):17-21. PubMed | Google Scholar France, www.has-sante.fr/portail.
- **Gardien E, Olive C, Chout R, Garceral Y, Jouannelle J. (1997).**Les entérobactéries hospitalières en Martinique en 1995 : distribution des phénotypes de résistance aux B-lactamines de 4511 souches urinaires et non urinaires.*Méd.Mal.Infect.*27 :888-92
- **Garnier, V., and De Champs, C. (2009).** High prevalence of CTX-M-type beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Bamako, Mali. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53(11): 4957-4958.
- **Gautier. Valérie.(2007)** Caractérisation et expression des gènes codant pour les β -lactamases chromosomiques au sein des entérobactéries de l'environnement. Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes, Université P. et M. Curie ; Paris.
- **Gniadkowski, M.(2001).** Evolution and epidemiology of extended spectrum beta-lactamases and ESBL producing micro-organisms. *Clin. microbial infect.* 7: 557 -608.
- **Gonsu Kanga H, Nzengang R, Toukam M, Sando Z, Koulla Shiro S.(2014).**Phénotypes de résistance des souches d'Escherichia coli responsables des infections

urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun). AJPM. ; 3:1-4. Google Scholar

- **Grall N., Andremont A., Armand-Lefèvre L. (2011).** Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? ANTINF-16 ; No. of Pages 16.
- **Haskouri S.** résistance aux antibiotiques : mécanismes et évolution. Thèse doctorat en
- **Hamza R., Blanco I., Kammoun H., Saidani B., Bokri M., Hassine J., Fersi M., Gandoura N. et Nedjai A. (2008).** Incidence de l'infection nosocomiale en pédiatrie dans la région de Bizert : résultats d'une surveillance de 03 mois. Rev Tun Infectiol. 3(3) : 11-20.
- **Harbottle H., Thakur S., Zhao S., White D.G. (2006).** Genetics of antimicrobial resistance. Anim. Biotechnol., 17: 111-124.
- **Hart, C. A. (2006).** *Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter and Serratia* spp. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 377- 386). England, UK: John Wiley and Sons Ltd.
- **HAS.(2005).** Prévention des infections liées aux cathéters veineux périphériques, hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis.* 10: 867–878. Infections associées aux soins .CCLIN Sud-Est.
- **Jamil I., Zafar A., Qamar M. U., Ejaz H., Akhtar J et Waheed A. (2014);** Multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* causing urinary tract infections in children in Pakistan. African Journal of Microbiology Research, 8 (4): p. 316-319.
- **Jacoby G.A. et Munoz-Price L.S.(2005).** The new β -lactamases. *N Engl J Med*; 352: 380-91.
- **Janda, J.M., and Abbott, S.L. (2006).** The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*. The Enterobacteria. Washington, USA: ASM Press: 115-129.
- **Jarlier, V., Nicolas, M.H., Fournier, G., and Philippon, A. (1988).** Extended-broad-spectrum β -
- **Jaureguy, F. 2009.** Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. *Med Sci, Paris.* 25(3): 221-223.
- **Joly B. et Reynaud A.(2007).** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p 3-182.
- **Julie. B. (2014).** Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, demarche
- **Kariuki S., Corkill JE., Revathi G., Musoke R., Hart A., Keynan Y., Rubinstein E. (2007).** The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community.

International journal of Antimicrobiol Agents 6:2474-2479. lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae:

- **Koumaré B. , Bougoudogo F ;(1993).** Résistance aux antibiotiques de 2187 souches bactériennes isolées au Mali entre 1980 et 1991 Med. Mal. Infect., 23 : 367-369
- **Koeck J. L. , Carvalho J. D., Fabre R. , Meyran M. , Roue R.(1996).** Sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif aérobies isolés d'infections sévères. En 1992 : Résultats d'une étude multicentrique française La presse médicale : 1996, Vol. 25, n°30, pp 1363-1366
- **L'Antibio-Résistance en Tunisie LART Données.(2011).** Disponible sur : (http://www.infectiologie.org.tn/pdf/lart2011/lart_2011_complet.pdf)
- **Lahsoune M., Boutayeb H., Zerouali K., Belabbes H. et El Mdaghri N., 2007.** Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'Acinetobacter baumannii dans un CHU marocain. Médecine et maladies infectieuses ; Volume 37, P. 828-831.
- **Lozniewski A, Rabaud C et Nancy. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques.
- **LAURENT. F ,2009.** Principales β -lactamines : Pénicillines G, A, M, inhibiteurs de β -lactamases, Uréidopénicillines, Carboxypénicillines C1G, C2G, C3G, Monobactames Carbapénèmes. Groupement Hospitalier Nord Lyon. P 8.
- **Lagha, N. (2015).** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen.105.
- **Livermore DM.(2008).** Defining an extended-spectrum β -lactamase. Clin Microbiol Infect; 14:3-10.
- **Livermore, D.M. (1995).** "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." Clin Microbiol Rev. 8(4): 557-584
- **Lozniewski A, Rabaud C et Nancy. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques.
- **Mehdi. S. (2008).** La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassan II de Settat .THESE.[en ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.
- **MOUTON.Y, BINGEN.E, DEBOXKER.Y et DUBREUIL.L, 2000.** Antiviraux Anti-infectieux. Éditions John Libbey Eurotext. Paris.P116.
- **MADIGAN.M et MARTINKO. J ,2007.** Biologie de Micro-organismes. Université Carbondale de l'Illinois du sud .11e édition. P 702,705, 711,860, 862.
- **Marrakchi CH., 2008.** Infections à Acinetobacter. Rev Tun Infectiol. 2(2): 28-30.

- **Medeiros, A.A. (1984).**β-lactamases. *Bnt. Med. Buli.* 40: 18-27.
- **Messai L., Achour W. et Ben Hassen A. (2007).** Profil épidémiologique des entérobactéries isolées chez des patients neutropéniques. *Pathologie Biologie* ; 55: 230-234
- **Mkaouar D., Mahjoubi F., Mezghani S., Znazen A., Ktari S. et Hammami A. (2008).** Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Médecine et maladies infectieuses.* 38 : 293-298.
- **Monnet, D.L. (2000)** Antibiotic use and bacterial resistance. *Ann Fr Anesth Reanim* 19:
- **Moutachakkira, M. (2015).** A résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique. Marrakesh.
- **Muylaert A., Mainil J. G.(2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » *Ann. Méd. Vét.*, 156, 109- 123
- **Nadmia H., Elotmani F., Talmi M., Zerouali K., Perrier-Gros-Claude J.D. et Timinouni M.(2010).** Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc). *Médecine et maladies infectieuses*; 40: 303-305.
- **Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., and Timinouni, M. (2012).** Prevalence and characterization of extended spectrum beta-lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Med. Mal Infect.* 42: 20-29.
- **Nili, F., and Yadegarinia, D. 2010.** Genetic characterization of ESBL producing strains
- **Nouri. M, Ziadi.C. (2015).** Étude bactériologique et résistance aux antibiotiques de klebsiellapneumonie. Génétiquemoléculaire, université des frère mentouri Constantine. P 4 of *Klebsiella pneumoniae* from Tehran hospitals. *J Infect Dev Ctries.* 4: 609-615.
- **Nadmi H, Elotmani F , Talmi M , Zerouali K , et al.** Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida. *Médecine et maladies infectieuses* .2010; 40:303-305
- **Organisation Mondial de la Santé-EUROPE, 20011,** 1P.
- **Organisation mondiale de la santé (OMS).** (16 nov. 2015).thème de santé .résistance
- **PRESCOTT, HARLEY et KLEIN, 2007** .Microbiologie .2e édition française. P 806, 807,813, 819

- **Paterson, D.L., and Bonomo, R.A. (2005).** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 18: 657-686.
- **Paterson, D.L., and Bonomo, R.A. (2005).** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 18: 657-686. perpétuel ! *Ann Biol Clin.* 64(1): 37-51.
- **pharmacie. Rabat :** université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie de rabat,
- **Philippon A. et Arlet G. (2006).** β-Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! *Annales de Biologie Clinique ;* 64 (1) : 37-51.
- **Podschun, R., and Ullmann, U. (1998).** *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev.* 11: 589-603.
- **PJ. Turner, JM. Greenhalgh.** The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European hospitals, 1997-2000. . *Clin Microbial Infect.* 2003;9:563-7.
- **Qureshi Z.A., Paterson D.L., Pakstis D.L., Adams-Haduch J.M., Sandkovsky G., Sordillo E., Polsky B., Peleg A.Y., Bhussar M.K. et Doi Y. (2011).** Risk factors and outcome of extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. *International Journal of Antimicrobial Agents;* 37: 26–32
- **Rabhi F. (2012).** Contribution à l'étude de la résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants aux antibiotiques : cas de la colistine en réanimation. Mémoire de master en microbiologie. Université d'Abou Bekr Belkaid- Tlemcen.
- **Radu-Popescu Manuela –Anda., Dumitriu Silvia., Enache-Soare Simona., Bancescu Gabriel., Udristoiu Aurelian., Cojocarus Manole., Vagu Codruta.(2010).** Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance patterns in *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Romanian hospital. 58 (3) : 6.
- **Ruppé E. (2010)** Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques ;* 12: 3-16.
- Skurnik, D. 2006 Antibiothérapie sélectionnante. De la théorie à la pratique. *Réanimation* 15, 198-204.
- **Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (Janvier à Décembre 2011)** Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 13ème rapport. Algérie. Repéré à : <http://www.sante.dz/aarn/documents/pdf/rapport13.pdf>

- **Réseau REUSSIR. Acinetobacter baumannii.(2012):** evolution of the susceptibility to antibiotics (2000-2004, 2010-2012).
- **Schumacher H. , Scheibel J et Maller J. K. (2000)** Cross –resistance patterns among clinical isolates of Klebsiella pneumoniae with decreased susceptibility to Ciprofloxacin. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 46, pp215-221
- **Sangeeth. K., Rajesh. KR et Indrapriya dharsini. (2014);** R. Antibiotic resistance pattern of Escherichia coli causing urinary tract infection with an emphasis on fluoroquinolone resistance. Global journal of medicine and public health, p. 1-8.
- **Saïdani.M., Boutiba.I., Ghozzi.R., Kammoun.Z., Ben Redjeb.S.,(1998).**, Profil bactériologique des bactériémies à germes multi-résistants à l’hôpital CharlesNicolle de Tunis.Med Mal Infect.,(36) :163-166.
- **Sefraoui I. (2011).** Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif non hétérofermentaires au niveau du CHU de sidi Bel Abbes. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaïd- Tlemcen.
- **Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamzaoui S.A. (2008).**Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines.Medecine et maladies infectieuses.38 :324-327
- **Sirof, J. (1989).** Prospective survey of colonization and infection caused by expanded spectrum-beta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit. J Clin Microbiol. 27(12): 2887-2890.
- **Skurnik D. et Andremont A.(2006).** Antibiothérapie sélectionnant : de la théorie à la pratique. Réanimation ; 15: 198–204.
- **Soussy CJ. (2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. In Soussy CJ. Les infections
- **Srinivasan V B., Vaidyanathan V., Mondal A., Rajamohan G.(2012).** Role of the Two Component Signal Transduction SystemCpxAR in Conferring Cefepime and Chloramphenicol Resistance in Klebsiella pneumoniae NTUH-K2044.April 2012 | Volume 7 | Issue 4 | e33777.urinaires : Monographies en urologie. pp. 21-46.
- **Stephanie.F. (2009).** Transfert d'un gene de resistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les enterobacteries de la ore intestinale humaine : inuence d'un traitement antibiotique. Medication.Universite Rennes 1.French
- **Surveillance des bactéries multi résistantes dans les établissements de santé en France, Réseau BMR-Raisin (Résultats 2008)**

- **Thapa. R., Lamichhane. P., Banjara.M.R et Acharya. G. P. (2015);** Prevalence of extended spectrum beta-lactamase producing uropathogens in pregnant women. *Asian Journal Pharmaceutical ClinicalResearch*,8 (1): p. 207-210.
- **Varsha G.(2007).** An update on newer β -lactamases. Department of Microbiology, Government Medical College & Hospital, Chandigarh, India. *Indian J Med Res*; 126: 417-427.
- **Vidon O. et Bourdin C. (2005).** β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Intérêt porté aux CTX-M. Sur le lien : umr5558-mq1.univ-lyon1.fr/.../BétaLactamasesSpectreEtendu?...BétaLactamases...
- **Villegas, M.V., Kattan, J.N., Quinteros, M.G., and Casellas, J.M.(2008).** Prevalence of extended-spectrum β -lactamases in South America. *Clin Microbiol Infect.* 14: 154–158.
- **Vodovar D, Marcadé G, Raskine L, Malissin I, Mégarbane B.(2013).** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi: épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *Rev Med Interne.*;34(11):687-93. PubMed | Google Scholar
- **Vincent. J. (2000)** .Bactéries multi résistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN)
- **Vu Thien H.(1998)** Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les infections urinaires en pédiatrie. *Archives de pédiatrie*, , vol. 5, pp 266-268
- **Weiss K. la résistance bactérienne la nouvelle guerre froide. Le médecin du québec, 2002, vol 37, n° 3, pp. 41-49.**
- **X. Bertrand, Y. Costa et al. (2005)** Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques, dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998-2003. *Médecine et maladies infectieuses* 35 329-334
- **Yala D, Merad AS, Mohamedi D. et Ouar korich MN. (2001).** Resistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb.* 91, 6-14.
- **Zahoun A, Dao I, Karfo R, Essayagh T, Sekhsokh Y, Bousta M, Elhamzaoui S. (2010).** Méningite nosocomiale postopératoire à *Acinetobacter baumannii* multirésistant en neurochirurgie : à propos d'un cas nosocomial. *Pathologie Biologie.* 29-31.

Annexe : les milieux de culture.

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

La gélose nutritive. pH = 7,3

-Peptone.....	6g
-Extrait de boeuf.....	1g
-Extrait de levure.....	2g
-Chlorure de sodium.....	5g
-Agar.....	14g

Gélose de Mac Conkey. Ph=7,1

-Pepton.....	20,0g
-Sucre.....	10,g
-Chlorure de sodium.....	5g
-Agar.....	15g

Résumé :

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques connaît une évolution mondiale préoccupante avec un impact croissant des β -lactamases à spectre étendu (ESBL), notamment avec l'émergence récente ces dernières années des nouveaux types de ESBL.

L'objectif de ce travail est basé sur l'étude de la résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif isolés à partir des dispositifs médicaux qui sont les cathéters veineux périphériques. Un total de 19 échantillons a été analysé dont 9 souches isolées et identifiées avec une prédominance des souches d'*Acinetobacter baumannii* (67%) suivies des souches de *Klebsiella pneumoniae* (11%) et de *Escherichia coli* (11%) et *Enterobacter cloacae* (11%). La résistance aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé selon (CA-SFM, 2019). Les souches isolées présentent une multi-résistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques. Les taux de résistance aux antibiotiques testés ont été : (100%) Ampicilline, (11.11%) Imipenème, (66%) Chloramphénicol, (55.55%) tétracycline, (55.55%) ciprofloxacine, (66.66%) Tobramicine.

Mot clés : La résistance, Entérobactérie, antibiotiques, ESBL .

ملخص:

تشهد مقاومة بكتيريا الأمعاء للمضادات الحيوية تطوراً عالمياً مثيراً للقلق مع زيادة تأثير طيف اللاكتاميز الممتد (ESBL)، خاصة مع ظهور الأخيرة في السنوات الأخيرة من أنواع جديدة من ESBL.

الهدف من هذا العمل هو دراسة مقاومة المضادات الحيوية لعصيات سلبية الغرام معزولة عن الأجهزة الطبية المتمثلة في القنطير الوريدية الطرفية. تم تحليل مجموعه 19 عينة بما في ذلك عزل وتحديد 9 سلالات الغالب منها 67 *Acinetobacter baumannii* تليها سلالات الالتهاب الرئوي كليبسيلا (11 %) و *Escherichia coli* (11%) و *Enterobacter cloacae* (11%). تم تحديد مقاومة المضادات الحيوية من خلال طريقة انتشار الأقراص في وسط أجار وفقاً لـ (CA-SFM, 2019). للسلالات المعزولة مقاومة متعددة للعديد من المضادات الحيوية. كانت معدلات مقاومة المضادات الحيوية التي تم اختبارها هي: (100 %) أميسيلين، (11.11 %) إيميبينيم، (66 %) كلورامفينيكول، (55.55 %) التتراسيكلين، (55.55 %) سيبروفلوكساسين، (66.66 %) طوبراميسين.

الكلمات المفتاحية: المقاومة، العصيات المعوية، المضادات الحيوية، ESBL

Abstract :

The resistance of enterobacteria to antibiotics is experiencing a worrying global evolution with an increasing impact of extended spectrum β -lactamases (ESBL), particularly with the recent emergence in recent years of new types of ESBL. The objective of this work is based on the study of antibiotic resistance of gram-negative bacilli isolated from medical devices that are peripheral venous catheters. A total of 19 samples were analyzed including 9 strains isolating and identifying predominantly strains of *Acinetobacter baumannii* (67%) followed by strains of *Klebsiella pneumoniae* (11%) and *Escherichia coli* (11%) and *Enterobacter cloacae* (11%). Antibiotic resistance was determined by the diffusion method of discs in agar medium according to (CA-SFM, 2019). The isolated strains have a multi-resistance to several antibiotics. The antibiotic resistance rates tested were: (100%) Ampicillin, (11.11%) Imipenem, (66%) Chloramphenicol, (55.55%) Tetracycline, (55.55%) Ciprofloxacin, (66.66%) Tobramicin.

Key words: Resistance, Enterobacterium, antibiotics, ESBL.