

MAST-579-34/01



UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
l'Environnement

مخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية للاغذية للبيوطبي والبيئة

Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : MICROBIOLOGIE

Présenté par

TERKIA DERDRA Nadia

Inscrit Sous le N°:	1804813
Date de:	
Cote:	7364

Thème

**Etude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries
isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen**

Soutenu le 26 juin 2013

Devant le Jury composé de :

Mme Ghembaza. L

Maître Assistante A

Présidente

Mr Drissi. M

Maître de Conférences A

Promoteur

Mr Belyagoubi. L

Maître Assistant A

Examineur

Année universitaire 2012-2013



MAST-579-34/01



UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
l'Environnement

مخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية للاغذية للبيوطبي والبيئة

Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : MICROBIOLOGIE

Présenté par

TERKIA DERDRA Nadia

Inscrit Sous le N°:	18 04 813
Date de:	
Cote:	7364

Thème

**Etude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries
isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen**

Soutenu le 26 juin 2013

Devant le Jury composé de :

Mme Ghembaza. L

Maître Assistante A

Présidente

Mr Drissi. M

Maître de Conférences A

Promoteur

Mr Belyagoubi. L

Maître Assistant A

Examineur

Année universitaire 2012-2013





UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
l'Environnement

مخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية للاغذية للبيوطبي وللبيئة



Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : MICROBIOLOGIE

Présenté par

TERKIA DERDRA Nadia

Thème

**Etude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries
isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen**

Soutenu le 26 juin 2013

Devant le Jury composé de :

Mme Ghembaza. L

Maître Assistante A

Présidente

Mr Drissi. M

Maître de Conférences A

Promoteur

Mr Belyagoubi. L

Maître Assistant A

Examineur

Année universitaire 2012-2013

Dédicace

Je dédie ce travail

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

A Mes chers parents

Ce travail est le fruit de vos incessants efforts et sacrifices pour nous parfaire notre éducation.

Ma chère maman, Tes bénédictions, ton amour maternel et tes conseils seront pour nous la lampe qui illumine le chemin de l'honneur. Puisses- tu recevoir ce jour comme le fruit de tes efforts.

Mon cher père, Les mots me manquent pour exprimer toute ma fierté qui n'égale que l'accomplissement total de ton devoir de père. Que ce travail soit une récompense pour tout ce que vous avait fait pour moi.

A mes chère sœurs Amel et Ikram, qui ont été toujours à l'écoute de mes journées et qui ont été toujours à mes cotés.

A tout les membres de la famille TERKIA DERDRA et KECHAIRI grands et petits.

A ma copine CHERIF BEN MOUSSA Sihem et sa famille : merci pour tout les moments inoubliable quand n'a passée ensemble, et d'avoir été l'une à coté de l'autre au moment les plus difficile, merci pour ton aide, ton soutien morale et surtout pour ta confiance.

A mes amis : Bouchra, Sarrah, Louiza, Aicha, Nabila.

A mes collègues du laboratoire : Meriem, Djahida, Amel, Tema, Imen, Asmaa, Moustapha, Je les remercier pour leur soutien et pour tous les conseils qui nous ont aidés a finalisé notre travail.

Remerciements

Je suis sensible à l'honneur que me fait Mr. DRISSI maitre de conférences à l'Université de Tlemcen, pour avoir accepté d'encadrer mon travail, pour son sérieux qui ma permis d'aller vers l'avant et de regarder profondément dans mon avenir, pour sa rigueur scientifique, ses encouragements et de sa gentillesse.

Je remercie Mme. GHEMBAZA L. en acceptant de présider le jury de ce travail.

Je remercie Mr. BELYAGOUBI L. d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier Mme. Boucherit directrice du laboratoire « Antibiotiques Antifongiques », de nous avoir permis de réaliser ce travail au sein de son laboratoire.

Je tien également à remercier le chef du service de neurochirurgie Dr. Benallal et son assistant Dr. Si Mohamed qui m'ont facilité l'accès dans leur service.

Je remercie vivement Mr. Abd Samad chef de service du laboratoire de microbiologie du C.H.U de Tlemcen pour son aide et sa gentillesse.

Je remercie vivement Mme la directrice de l'hôpital du temps qu'elle nous à accorder pour être à l'écoute de l'étude qu'on va menée et de nous avoir facilité l'accès dans le laboratoire de microbiologie du C.H.U de Tlemcen.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans associer toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Liste des figures

Figure 1 Classification des β -lactamines. Dérivés de l'acide 6- amino-pénicillanique.....	3
Figure 2 . Classification des β -lactamines. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et monobactames.	4
Figure 3 . Structure commune des quinolones	7
Figure 4 . Structure de norfloxacin	8
Figure 5 . Plaque API 20 E (Bio Mérieux).....	23
Figure 6 . Disposition des disques d'antibiotiques sur les boîtes d'antibiogrammes.....	25
Figure 7 . Schéma d'une image de synergie.....	26
Figure 8 . Lecture du test de Hodge.....	28
Figure 9 . Schéma du test IMP-EDTA.....	29
Figure 10 . Répartition des souches isolées à partir des prélèvements de l'environnement....	33
Figure 11 . Répartition des souches isolées à partir des prélèvements sur les patients.....	34
Figure 12 Illustration de l'identification par galerie API 20 E des espèces d'entérobactéries isolées.....	35
Figure 13 . Pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches isolées au niveau du service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen	36
Figure 14 . Répartition des mécanismes de résistance des souches isolées au niveau du service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen.....	36
Figure 15 . Illustration d'une production de la céphalosporinase.....	37
Figure 16 . Résultats du test à la cloxacilline.....	37
Figure 17 . Illustration de la production d'une BLSE (formation d'une image de synergie entre AMC et CTX, ATM, CAZ).....	37

Figure 18. Illustration d'une production de la céphalosporinase associée au phénotype BLSE suite au test à la cloxacilline.....	38
Figure 19. Illustration d'une production de la céphalosporinase plasmidique associé à une production de BLSE.....	38
Figure 20. Illustration d'une production de la céphalosporinase associée à une pénicillinase.....	39
Figure 21. Mesure des CMI par l'utilisation des bandelettes E-test pour l'imipénème et la colistine (<i>Pantoea spp 4</i>).....	40
Figure 22. Mesure des CMI par l'utilisation des bandelettes E. test (IMP, CS) (<i>Pantoea spp 4</i>).....	40
Figure 23. Résultat du test de Hodge	41
Figure 24. Résultat du test d'IMP-EDTA.....	41
Figure 25. Résultats de la conjugaison.....	42
Figure 26. Résultats d'antibiogramme des transconjugants.....	42
Figure 27. Résultats de PCR pour les gènes TEM et SHV.....	43

Liste des tableaux

Tableau 1. Principaux genres et espèces de la famille des entérobactéries.....	12
Tableau 2. Principaux caractères biochimiques différentiels des genres les plus fréquemment rencontrés chez l'homme.....	14
Tableau 3. Phénotype de résistance naturelle des entérobactéries	18
Tableau 4. Résultats d'identification des souches isolées à partir des prélèvements de l'environnement.....	32
Tableau 5. Résultats d'identification des souches isolées à partir des prélèvements sur les patients.....	33
Tableau 6. Résultats des CMI.....	39
Tableau 7. Résultats d'antibiogramme obtenus pour les transconjugants.....	42

Liste des abréviations

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

ECAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

CA-SFM: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

P.L.P : Protéine Liant les Pénicillines.

LDC : Lysine décarboxylase.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ADH : arginine-dihydrolase.

TDA : désaminase de tryptophane et de la phénylalanine.

ECA: Enterobacterial Common Antigen.

BLSE : β - lactamases à spectre élargi.

EDTA : Acide éthylène-diamine-tétraacétique.

CIT : Citrate.

VP : voges proskauer.

GLU: Glucose.

BHIB: Brain Heart Infusion Broth.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

BET : Bromure d'éthidium.

Pb : Paire de bases.

Kb: Kilo bases.

CASE: Céphalosporinase.

PASE: pénicillinase.

IMP: imipénème.

Rif R : résistant à la rifampicine.

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

R : Résistant.

S : Sensible.

I : Intermédiaire.

UFC : Unités Formant les Colonies.

SHV : Sulfhydryl variable.

TEM : d'après Temoniera : nom du malade chez qui la première souche a été isolée.

Tris : trishydroxyméthylaminométhane.

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux.....	
Liste des annexes.....	
Introduction	1

Partie I. Synthèse bibliographique

CHAPITRE I. LES ANTIBIOTIQUES.....	2
1. Généralités sur les antibiotiques.....	2
1.1.Définition	2
1.2.Spectre d'activité	2
2. Les β -lactamines.....	2
2.1. Définition	2
2.2.Classification des β -lactamines.....	2
2.2.1. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique.....	3
2.2.2. Dérivés de l'acide 7-amicéphalosporanique.....	4
2.2.3. Monobactame.....	4
2.3.Mécanisme d'action	5
2.3.1. Synthèse de peptidoglycane.....	5
2.3.2. Action des β -lactamines sur la bactérie.....	5
3. Les aminosides.....	6
3.1. Définition.....	6
3.2. Classification des aminosides	6
3.3. Mode d'action des aminosides	6
4. Les quinolones	7
4.1.Définition	7
4.2.Classification des quinolones	7
4.3.Mode d'action des quinolones.....	8
5. Les polymyxines.....	8
5.1.Définition.....	8

5.2. Classification des polymyxines	8
5.3. Mode d'action des polymyxines	9
CHAPITRE II : LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES.....	10
1. La résistance bactérienne.....	10
2. Les phénotypes de résistance.....	10
3. Mécanismes génétique de la résistance acquise.....	10
3.1. Résistance chromosomique	11
3.2. Résistance extra chromosomique.....	11
4. Mécanismes biochimiques de la résistance acquise.....	11
CHAPITRE III : LES ENTEROBACTERIES	12
1. Généralités.....	12
2. Caractères culturaux.....	13
3. Caractères biochimiques.....	13
4. Caractères antigéniques	14
5. Résistance des entérobactéries aux β -lactamines.....	15
5.1. Mécanismes de résistance.....	15
5.1.1. Résistance non enzymatique aux β -lactamines.....	15
5.1.2. Résistance enzymatique aux β -lactamines.....	16
5.2. Phénotype de résistance des entérobactéries aux β -lactamines.....	17
5.2.1. Résistance naturelle ou phénotype sauvage.....	17
5.2.2. Résistance acquise ou phénotype de résistance.....	18
5.3. Résistance aux carbapénèmes.....	20
6. Résistance des entérobactéries aux aminosides	20
7. Résistance des entérobactéries aux quinolones	20
8. Résistance des entérobactéries aux polymyxines.....	21

Partie II. Matériel et méthodes

1. Matériel	22
1.1. Matériel biologique.....	22
1.1.1. Souches étudiées.....	22
1.1.2. Souches de référence.....	22
1.2. Milieux de culture	22

1.2.1. Milieux liquide	22
1.2.2. Milieux solide.....	22
1.3. Tests biochimiques.....	22
1.4. Antibiotiques.....	22
2. Méthodes.....	23
2.1. Prélèvements.....	23
2.2. Souches bactériennes.....	23
2.2.1. Isolement et identification	23
2.2.2. Test d'oxydase	24
2.3. Test TSI.....	24
2.4. Antibiogramme.....	24
2.5. Test à la cloxacilline.....	25
2.6. Test de synergie.....	26
2.7. Méthode E. test.....	26
2.8. Détermination des CMI en milieux solide.....	27
2.9. Test de Hodge	27
2.10. Test IMP- EDTA.....	29
2.11. Transfert des gènes de résistance : conjugaison.....	29
2.12. Amplification par réaction en chaîne de la polymérase (PCR)	30

Partie III. Résultats et discussion

1. Résultats.....	32
1.1. Prélèvements	32
1.2. Souches étudiées	32
1.3. Etude de la résistance aux antibiotiques	35
1.4. Répartition des mécanismes de résistances aux β -lactamines	36
1.5. Détermination des valeurs de CMI	39
1.6. Recherche d'enzymes ayant une activité de carbapénémases.....	40
1.7. Résultat de conjugaison.....	41

1.8.Résultats PCR.....	42
2. Discussion	44
Conclusion.....	48
Référence bibliographique	49
Annexes.....	54

INTRODUCTION

Compte tenu de la surreprésentation des bactéries résistantes dans la plupart des données épidémiologiques d'infections nosocomiales, la question est depuis posée de savoir si la multirésistance est en soi un facteur indépendant de fréquence de ces infections ou de leur persistance malgré les efforts développés en termes de prévention (**Thomas et Camus., 1997**).

Les problèmes infectieux après neurochirurgie ne sont pas fréquents mais posent des problèmes en termes de diagnostic et de traitement. Ils allongent la durée d'hospitalisation, sont responsables d'une morbidité importante et imposent une antibiothérapie prolongée (**Pierre-Etienne et al., 2010**). La première tâche irremplaçable du microbiologiste consiste à apporter au clinicien une information claire sur la sensibilité aux antibiotiques d'une bactérie reconnue responsable d'une infection prouvée, et sur le profil de l'agent pathogène en termes de sensibilité probable aux antibiotiques et en termes de capacité à développer des résistances (**Joly-Guillou, 2004**). La maîtrise de la résistance bactérienne aux antibiotiques est une priorité de santé publique qui nécessite des actions concertées dans les établissements de santé.

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'étude de l'écologie microbienne et de la résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif dans le service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen. Parmi les bacilles à Gram négatif, les entérobactéries sont des agents importants impliqués dans la majorité des infections nosocomiales, dont le traitement fait appel à quatre classes importantes d'antibiotiques : les β -lactamines, les aminosides, les quinolones et les polymyxines.

PARTIE I.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. LES ANTIBIOTIQUES

1. Généralités sur les antibiotiques

1.1. Définition

Les antibiotiques antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effet toxique pour les organismes supérieurs. Les antibiotiques au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivées semi synthétiques et les produits entièrement synthétiques (Nauciel et Vildé., 2005).

1.2. Spectre d'activité

Le spectre antibactérien d'un antibiotique est destiné à caractériser l'activité microbiologique d'un antibiotique sur une espèce bactérienne en tenant compte des résistances naturelles et acquises. L'établissement du spectre antibactérien repose initialement sur la répartition des concentrations minimales inhibitrices (CMI) au sein de la population sauvage d'une espèce bactérienne et la définition des concentrations critiques, proposées par des comités d'experts au sein de sociétés savantes et en particulier par l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) qui fédère six comités nationaux européens, dont le CA-SFM (Mérens, 2007).

2. Les β -lactamines

2.1. Définition

Les β -lactamines sont une large classe d'antibiotiques qui comprennent les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes et les inhibiteurs de la β -lactamase, en bref, tout antibiotique qui contient un noyau β -lactame dans sa structure moléculaire (Bryskier, 1999).

2.2. Classification des β -lactamines

La classification des β -lactamines se base sur la structure du noyau de base, qui comporte toujours le cycle β -lactame, permet de répartir ces produits en trois grands groupes : les

dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique, les dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et les monobactames.

2.2.1. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique

Leur noyau de base associe un cycle β -lactame à un cycle thiazolidine, spécifique des pénicillines. Il intègre le grand groupe des β -lactamines ayant un noyau pénème, caractéristique des pénicillines, parmi les quelles il y a lieu de distinguer au moins sept sous-groupes.

Ce sont : les phénoxpénicillines et analogues de la pénicilline G, la méthicilline et les isoxazolylpénicillines, les aminopénicillines, les carboxypénicillines, les acyluréidopénicillines, les amidinopénicillines, les pénicillines sulfonées et les méthoxycarboxypénicillines (Figure 1).

D'autres β -lactamines ont un noyau qui dérive du noyau pénème par substitution du soufre en position 1 :

- la substitution du soufre en position 1 du noyau pénème par un oxygène est à l'origine du noyau clavame, l'acide clavulanique.
- la substitution du soufre en position 1 du noyau pénème par un atome de carbone est à l'origine du noyau pénème ; les carbapénèmes les plus connus sont l'imipénème, le méropénème et l'ertapénème (Cavallo et al., 2004).

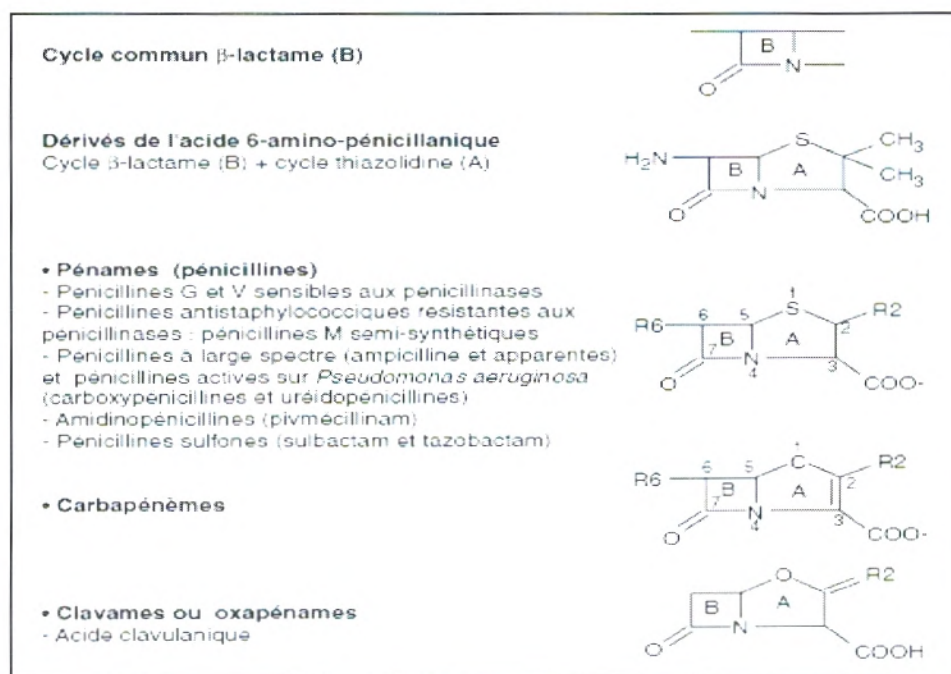


Figure 1. Classification des β -lactamines .Dérivés de l'acide 6-amino- pénicillanique (Cavallo et al., 2004)

2.2.2. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique

Leur noyau de base associe un cycle β -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former l'acide 7-amino-céphalosporanique (noyau céphème), qui distingue les céphalosporines des pénicillines. Suivant les substituant en R3 et R4, on distingue les céphalosporines, les céphamycines et les oxacéphèmes (figure 2).

Les céphalosporines sont classées par génération :

- **Les céphalosporines de première génération** : Céfaclor, Céfadroxil, Céfalexine, Céfalotine, Céfatrizine, Céfazoline, Céfradine.
- **Les céphalosporines de deuxième génération** : comprend les céphamycines comme la céfoxitine et le céfotétan leur sont rattachées du fait de leur spectre très proche, à certaines entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu.
- **Les céphalosporines de troisième génération** : Céfotaxime, céftazidime, ceftriaxone, céfopérazone.

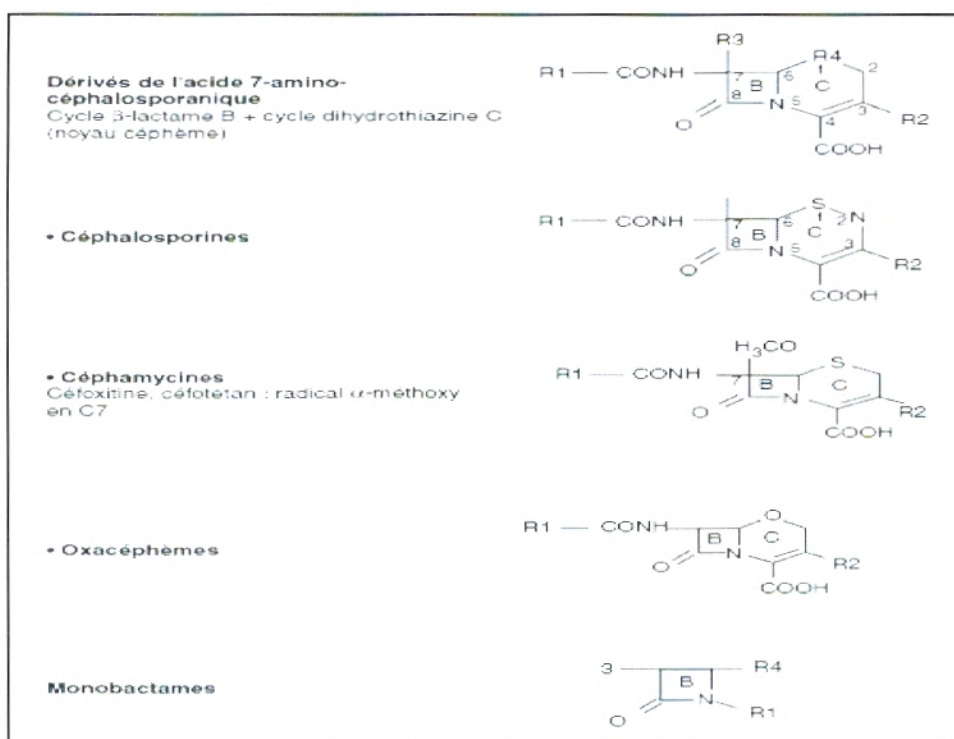


Figure 2. Classification des β -lactamines : dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et monobactames (cavallo et al., 2004)

2.2.3. Monobactames

Leur noyau se caractérise par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle β -lactame (Figure 2). Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle prescrit.

2.3. Mécanisme d'action

Très tôt dans l'étude des mécanismes d'action des β -lactamines, il est apparu que leur effet antibactérien est dû en grande partie à une interférence avec le métabolisme de la paroi cellulaire et en particulier, avec celui de son principal constituant structural, le peptidoglycane, qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif composé de chaînes linéaires de N-acétyl-D-glucosamine et d'acide N-acétyl-muramique. Ces chaînes polyosidiques sont reliées entre elles par de courtes chaînes de tétrapeptides qui contiennent de la L-alanine, de l'acide D-glutamique, de la L-lysine et de la D-alanine (**Courvalin et al., 1991**).

2.3.1. Synthèse de peptidoglycane

La formation du peptidoglycane est un phénomène complexe en raison du nombre important d'étape mise en jeu et de leur compartimentation dans des sites cellulaires distincts : cytoplasme, membrane cytoplasmique et périplasme. Les étapes cytoplasmiques conduisent à la formation de l'UDP-N-acétylmuramyl-pentapeptide à partir de l'UDP-N-acétylglucosamine. Le motif phospho-N-acétylmuramyl-pentapeptide est ensuite transféré à un décaprényle phosphate, puis il y a introduction d'un résidu de N-acétylglucosamine. Le précurseur membranaire ainsi formé sert de substrat pour les étapes de polymérisation, qui ont lieu à l'extérieur de la membrane cytoplasmique et qui comprennent des réactions de transglycosylation conduisant aux pontages entre sous-unités peptidiques (**Courvalin et al., 1991**).

2.3.2. Action des β -lactamines sur la bactérie

Les β -lactamines inhibent les transpeptidases et les carboxypeptidases parce qu'elles possèdent une analogie structurale avec le substrat naturel de ces enzymes et se fixent par une liaison covalente sur des cibles spécifiques, les PLP (protéine de liaison à la pénicilline) ce qui inhibe la transpeptidation et la synthèse du peptidoglycane. Une fois fixé sur les PLP, les β -lactamines provoquent une déstructuration du peptidoglycane et la libération de l'acide lipoteichoïque qui met en jeu le système autolytique bactérien (**Prescott et al., 2003**).

3. Les aminosides

3.1. Définition

Les antibiotiques aminosidiques ou aminoglycosides sont des molécules de petite taille, présente un large spectre, bactéricide, constituées de plusieurs cycles substitués par des fonctions amines et hydrolyse notamment et dont certains sont des cycles sucrés. Ces composés sont largement employés en thérapeutique dans le traitement des infections bactériennes sévères, principalement en milieu hospitalier (Courvalin et al., 1991).

3.2. Classification des aminosides

Les aminosides sont classés selon la position des sucres fixés sur le cycle désoxystreptamine.

- Substitution en 4-5 : néomycine, paromomycine, lividomycine, ribostamycine et butyrosine.
- Substitution en 4-6 : ici situent tous les aminosides essentiels, parmi lesquels on peut rapprocher, en fonction des analogies de formules, kanamycine, tobramycine, dibékacine et amikacine, gentamicine, sisomicine et nétilmicine.
- Autres aminosides : spectinomycine, apramycine, fortimicines, kasugamycine ces trois derniers ne sont pas utilisés en thérapeutique humaine (Le Minor et Véron., 1989).

3.3. Mode d'action des aminosides

Le transport des aminosides à l'intérieur des bactéries est un processus requérant de l'énergie et que l'on peut décomposer en trois étapes successives.

- **Première étape** : très rapide non spécifique et réversible, aboutit à la fixation des aminosides, molécules fortement cationique, sur des structures anioniques externe de la membrane cytoplasmique et ce via les interstices du peptidoglycane chez les Gram positif, par des pores ou par dislocation du lipopolysaccharide chez les Gram négatif (Changeur et Cherruault., 2009).
- **Deuxième étape** : requiert une énergie métabolique délivrée par un gradient entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule et cette étape peut être bloquée par mutation. Elle peut également être perturbée, si les conditions strictes exigées par la production d'énergie oxydatif pour le transport des aminosides ne sont pas respectées (Bryskier, 1999).

- **Troisième étape** : est rapide, Les aminosides se fixent sur le ribosome et provoquent la fixation d'un ARNt incorrect sur l'ARNm, ce qui perturbe la reconnaissance codon-anticodon et induit la synthèse de protéines erronées (**Marty, 2000**).

4. Les quinolones

4.1. Définition

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité (**Cattoir, 2012**).

Parmi eux, les fluoroquinolones qui sont actifs notamment sur les bacilles à Gram négatif (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*) (**Winterberge, 2012**).

Elles sont largement prescrites dans les infections urinaires, respiratoires, génitales, osseuses, méningées, abdominales... etc., en particulier au cours d'infections à bacilles à Gram négatif aérobies (BGN) (**Ansart et al., 2005**).

4.2. Classification des quinolones

- Les premières quinolones, dites de première génération : acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, comprennent des molécules à spectre étroit, utilisées dans le traitement des infections urinaires dues aux entérobactéries (figure 3).
- Les quinolones de deuxième génération : norfloxacine (figure 4), ofloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine, présentent un spectre élargi à d'autres bacilles à Gram négatif.
- Les molécules de troisième génération ou dites fluoroquinolones : sparfloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine.
- les fluoroquinolones de quatrième génération : trovafloxacine, gatifloxacine présentant une activité accrue sur les bactéries anaérobies strictes (**Cattoir, 2012**).

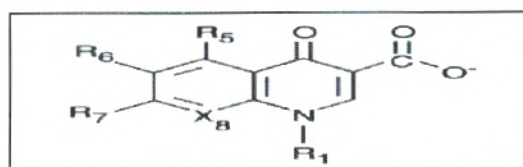


Figure 3. Structure commune des quinolones (**Winterberge, 2012**)

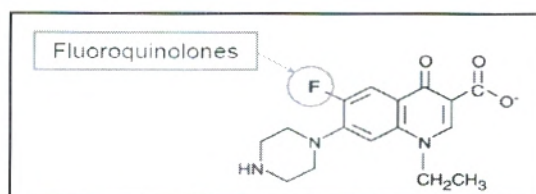


Figure 4. Norfloxacin (Michael, 2010)

4.3. Mode d'action des quinolones

Le mécanisme d'action de cette classe pharmacologique consiste en une inhibition de l'ADN gyrase, topoisomérase II bactérienne composée de deux sous-unités A et deux sous-unités B et de la topoisomérase IV. Ces enzymes sont essentielles à la réplication et à la transcription de l'ADN bactérien, l'inhibition par les quinolones du complexe ADN bactérien enzymes empêche le «surenroulement» de l'ADN, le relâchement de l'ADN «surenroulé» et entraîne la séparation de la double chaîne hélicoïdale de l'ADN. Les quinolones sont spécifiques à l'ADN bactérien et exercent une activité bactéricide pendant la phase de multiplication et de repos des bactéries (Larouche, 2001).

5. Les Polymyxines

5.1. Définition

Les polymyxines constituent une famille d'antibiotique bactéricide. Ce sont des décapeptides dont 7 acides aminés sont associés au sein d'un cycle. Un acide gras est attaché au peptide en position terminal. Ils ont un spectre étroit sont actives sur les bactéries à Gram négatif à l'exclusion des *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* et les anaérobies (Matthew et al., 2010).

5.2. Classification des polymyxines

- Polymyxines A
- Polymyxines B
- Polymyxines C
- Polymyxines D
- Polymyxines E

Les polymyxines A, D, C sont trop toxiques, c'est pour cette raison que seules les polymyxines B et E sont utilisées (Matthew et al., 2010).

5.3. Mode d'action des polymyxines

Les polymyxines ont une charge électropositive et agissent comme des détergents cationiques. Ils se fixent aux phospholipides de la membrane cytoplasmique et sur la membrane externe des bactéries à Gram négatif. L'altération de ces deux membranes entraîne des troubles de perméabilité. Il en résulte une rupture de l'équilibre osmotique de la cellule bactérienne et un relargage dans le milieu extérieur des constituants intracellulaires, ce qui entraîne la mort de la bactérie. C'est un effet bactéricide qui s'exerce aussi sur des bactéries métaboliquement actives que sur celles au repos (**Makan, 2007**).

CHAPITRE II. LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

1. Résistance bactérienne

Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre in vivo à la suite d'un traitement. Parfois, la résistance à un antibiotique confère de la résistance à un autre antibiotique et c'est ce que l'on appelle la résistance croisée. Les bactéries sont dites multi-résistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques (Carle, 2010).

2. Phénotypes de résistance

Quand on étudie la sensibilité d'une souche à plusieurs antibiotiques, on détermine son phénotype de résistance aux antibiotiques. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype "sauvage" ou sensible (Sekhri, 2011).

- **Résistance naturelle (ou intrinsèque)**

Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique (Carle, 2010).

- **Résistance acquise**

La résistance acquise, souvent médiée par un support génétique faisant partie d'élément mobile (plasmides, transposons), a la faculté d'être transmissible horizontalement parfois entre espèces différentes et elle peut aussi résulter de la modification du patrimoine génétique après mutation, on dit qu'elle est chromosomique (Oumou, 2005).

3. Mécanismes génétiques de la résistance acquise

Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique (Le Minor et Véron., 1989).

3.1. Résistance chromosomique

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action (Carle, 2010).

3.2. Résistance extra chromosomique

La résistance peut provenir de l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides, bactériophages ou transposons. On parle alors de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation.

Les plasmides et transposons déterminent la résistance aux antibiotiques de nombreuses β -lactamases. En effet, une β -lactamase spécifique à une bactérie peut apparaître chez d'autres espèces par la suite, au vu du transfert relativement facile de matériel génétique entre les différentes bactéries (Mirabaud, 2003).

4. Mécanismes biochimiques de la résistance acquise

Les mécanismes biochimiques de la résistance acquise peuvent être regroupés en quatre grands types de mécanismes :

- **Diminution de la perméabilité et efflux actif** : par altération des porines dans la paroi des bactéries à Gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique (Carle, 2010).
- **Modification de la cible des antibiotiques** : ces modifications se font par mutation dans les gènes codant la cible de l'antibiotique, ou par acquisition de gènes étrangers (Prouzergue-Blancher, 2011).
- **Efflux actif** : Les systèmes d'efflux sont constitués de protéines particulières, jouant le rôle de pompes utilisant une force « protons motrice » pour expulser l'antibiotique dès qu'il apparaît dans la bactérie (Sekhri, 2011).
- **Production d'enzymes inactivant les antibiotiques** : Il peut s'agir d'une destruction de l'antibiotique telle l'hydrolyse des β -lactamines par une enzyme, la β -lactamase, ou d'une modification de la molécule d'antibiotique par ajout de radicaux (Prouzergue - Blancher, 2011)

CHAPITRE III. LES ENTEROBACTERIES

1. Généralités

Dans la famille des entérobactéries sont groupés les bacilles à Gram négatif qui sont : soit mobiles avec une ciliature péritriche, soit immobiles, non sporulés, aérobies et anaérobie facultatifs, qui fermentent le glucose avec ou sans production de gaz, qui possède une nitrate-réductase à l'exception de certains souche d'*Erwinia* et de très rares mutants, leurs culture donne toujours une réaction négative des oxydases, possèdent une catalase (**Le Minor et Véron., 1989**). La famille des entérobactéries comprend de nombreux genres et espèces dont la liste résumée ci-dessous (Tableau 1) :

Tableau 1. Principaux genres et espèces de la famille des entérobactéries (Courvalin et al., 1991)

Enterobacter:	<i>E. aerogenes, E. cloacae, E. asburiae, E. agglomerans, E. gergoviae, E. sakazakii, E. taylorae, E. amnigenus, E. intermedium.</i>
Edwardsiella:	<i>E. tarda, E. hoshinae, E. ictaluri.</i>
Escherichia:	<i>E. coli.</i>
Ewingella:	<i>E. americana.</i>
Klebsiella:	<i>K. pneumoniae, K. oxytoca, K. planticola, K. ozaenae, K. rhinoscleromatis, K. terrigena.</i>
Kluyvera :	<i>K. ascorbata, K. cryocrescens.</i>
Koserella :	<i>K. trabulsii.</i>
Leminorella :	<i>L. grimontii, L. richardii.</i>
Proteus :	<i>P. mirabilis, P. vulgaris, P. morganii, P. rettgeri, P. penneri, P. myxofaciens.</i>
Providencia :	<i>P. stuartii, P. alcalifaciens, P. rustigianii.</i>
Salmonella :	<i>S. enterica.</i>
Serratia :	<i>S. marcescens, S. liquefaciens, S. rubideae, S. odorifera, S. plymuthica, S. ficaria</i>
Tatumella :	<i>T. pyseos.</i>
Xenorhabdus :	<i>X. luminescens, X. nematophilus.</i>
Yersinia:	<i>Y. enterocolitica, Y. frederiksenii, Y. intermedia, Y. kristensenii, Y. pestis, Y. pseudotuberculosis}</i>

2. Caractères cultureux

Les entérobactéries se développent bien dans le bouillon, ou sur gélose ordinaire incubée 18 heures à 37°C. Sur gélose, On peut obtenir différentes formes :

- Les formes S (Smooth) : les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles ont 2 à 4 mm de diamètre.
- Les formes R (Rough) : s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irrégulier et de teinte mate. En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux (**Oumou, 2005**).

3. Caractères biochimiques

Un caractère ou un marqueur biochimique est utilisé pour définir des biotypes (ou biovars). Plusieurs caractères peuvent être recherchés pour diagnostiquer le genre et l'espèce, parmi lesquels (Tableau 2):

- l'utilisation d'un substrat en milieu complexe aérobie (citrate, malonate).
- la production de métabolites par une réaction caractéristiques comme le nitrite produit à partir du nitrate par une réductase et l'indole produit à partir du tryptophane.
- les enzymes produites : lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC), uréase (**Le Minor et Véron., 1989**).

Tableau 2. Principaux caractères biochimiques différentiels des genres les plus fréquemment rencontrés chez l'homme (Le Minor et Véron., 1989).

	mobilité	H ₂ S	LDC	ODC	ADH	Uréase	TDA	Indole	Citrate de Simmons
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Levinea</i>	-	-	-	-	d	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	d	d	d	-	-	-	-
<i>Shigella</i>	-	-	-	d	d	-	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hafnia alvei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Serratia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	d
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	d
<i>P. morgani</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. rettgeri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Providencia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia</i>	-	-	-	-	-	-	-	d	-

LDC : lysine- décarboxylase.

ODC : ornithine-décarboxylase.

ADH : arginine-dihydrolase.

TDA : désaminase de tryptophane et de la phénylalanine.

d= différent type biochimique.

+ : positif.

- : négatif.

4. Caractères antigéniques

La plupart des espèces d'entérobactéries possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunitz ou ECA (Enterobacterial Common Antigen). Il existe trois catégories d'antigènes (Nauciel et Vildé., 2005).

- **Les antigènes O** : ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostable et résistant à l'alcool ou l'acide.

- **Les antigènes H** : ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présent que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine. La flagelline, ils sont thermolabiles et inactivé par l'alcool.
- **Les antigènes K** : ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E. coli* et l'antigène Vi de certains *Salmonelle* ou *Citrobacter*. ils sont détruits par une présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88. K99) (Nauciel et Vildé., 2005).

5. Résistance des entérobactéries aux β -lactamines

Les entérobactéries hébergent naturellement et ont acquis des résistances aux β -lactamines limitant leur activité (Philippon et Arlet., 2012).

5.1. Mécanisme de résistance

5.1.1. Résistance non enzymatique aux β -lactamines

✓ Imperméabilité

La modification ou la perte de porines est assez fréquente chez les entérobactéries. Trois phénotypes de résistance sont associés à ces modifications :

- une résistance de bas niveau à la céfoxitine, associée ou non à une résistance de bas niveau aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération.
- une résistance isolée aux céphalosporines de 4^{ème} génération chez des souches hyperproductrices de céphalosporinases.
- une résistance aux carbapénèmes chez des souches hyperproductrices de céphalosporinases ou de BLSE (Robin et al., 2012).

✓ Modification de la cible des β -lactamines

Des modifications des PLP par mutation ont été impliquées dans la résistance aux β -lactamines. Une diminution de la production de la PLP1A à été associée à la résistance à l'imipénème et au mecillinam chez *P. mirabilis*. Ces mutations restent rares chez les entérobactéries (Robin et al., 2012).

✓ Pompe à efflux

Les résistances acquises aux β -lactamines liées à l'hyper-expression de ces systèmes d'efflux n'ont été décrites que chez des bactéries à Gram négatif comme *E. coli*, *N. gonorrhoeae* (Cavallo et al., 2004).

5.1.2. Résistance enzymatique aux β -lactamines

❖ Définition

Les β -lactamases sont des enzymes produites par les bactéries et transmises par des chromosomes ou des plasmides. Elles constituent un mécanisme de résistance très efficace. Les β -lactamases inactivent les β -lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle lactame (Carle, 2010).

❖ Classification des β -lactamases

Parmi les nombreuses classifications proposées, les plus utilisées sont la classification structurale d'après Ambler et la classification fonctionnelle par groupes en fonction des spectres de substrat d'après Bush-Jacoby-Meideros (Philippon et Arlet., 2012)

• Classification structurale de Ambler

Cette première classification dite structurale, est basée sur la structure primaire de l'enzyme, notamment du site actif. Elle individualise quatre classes moléculaires A, C et D (appelées sérines enzyme) et B (dont les enzymes comportent deux atomes de zinc au niveau de leur site actif).

- la classe A correspond aux pénicillinases et aux β -lactamases chromosomiques ou plasmidiques sensibles à l'acide clavulanique.
- la classe B comprend les métalloenzymes, inhibés par l'EDTA.
- la classe C inclut les céphalosporinases résistantes à l'acide clavulanique habituellement chromosomiques.
- la classe D regroupe les Oxacillinases (Jacob, 2003).

• Classification fonctionnelle de Bosh-Jacoby-Medeiros

La classification fonctionnelle, est basée sur le spectre préférentiel des enzymes et sur leur comportement aux inhibiteurs (Jacob, 2003).

❖ Mécanisme d'action

L'inactivation de l'enzyme se fait de façon progressive « une molécule d'enzyme pour une molécule de substrat » et aboutit à la dégradation totale de l'inhibiteur (inhibiteur suicide). Lorsque l'enzyme s'est fixée sur son substrat, l'hydrolyse qui va se produire est caractérisée par la V_{max} atteinte lorsque l'enzyme est saturée par son substrat. La réaction enzymatique dépend de l'importance de ces deux facteurs. Une forte affinité et une grande vitesse d'hydrolyse favorisent la destruction rapide de la β -lactamine (vodovar et al., 2012).

5.2. Phénotypes de résistance des entérobactéries aux β -lactamines

5.2.1. Résistance naturelle ou phénotype sauvage

Historiquement, quatre groupes d'entérobactéries avaient été définis sur la base du phénotype de résistance naturelle aux β -lactamines. Depuis, la création de nouveaux groupes ont été proposée suite à l'évolution de la taxonomie et des connaissances dans le domaine des β -lactamases. Ainsi, 7 groupes d'entérobactéries peuvent être différenciés (Tableau 3) (Philippon et Arlet., 2012)

- **Groupe 0** inclut les entérobactéries ne possédant aucun gène codant pour une β -lactamase et donc naturellement sensibles à toutes les β -lactamines testées.
- **Groupe 1 (céphalosporinase constitutive de très bas niveau)** résistance naturel pour une céphalosporinase de la classe C d'Ambler donc résistante aux inhibiteurs (Robin et al., 2012).
- **Groupe 2 (pénicillinase de bas niveau)** inclut les espèces possédant une pénicillinase chromosomique constitutive exprimée à bas niveau .Le phénotype de résistance est caractérisé par une résistance aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines.
- **Groupe 3 (céphalosporinase inductible)** comprend les espèces d'entérobactéries productrices de céphalosporinase AmpC, résistante aux inhibiteurs et inductible par les β lactamines car régulée par un facteur de transcription AmpR. Le phénotype de résistance est marqué par une résistance aux aminopénicillines seules ou associées aux inhibiteurs et une résistance aux céphalosporines de 1^{ère} génération (Philippon et Arlet., 2012).
- **Groupe 4 (céphalosporinase inductible + enzyme sensible aux inhibiteurs)** production de deux enzymes : une céphalosporinase inductible de classe C donc résistante aux inhibiteurs et une enzyme sensible aux inhibiteurs.
- **Groupe 5 (céfuroximase inductible)** rassemble les espèces produisant une enzyme chromosomique, sensible aux inhibiteurs, inductible et ayant un spectre d'activité hydrolytique proche de celui des BLSE. Ils présentent naturellement une résistance aux aminopénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} génération et au céfuroxime, ainsi qu'une sensibilité aux associations d'aminopénicillines et d'inhibiteurs (Philippon et Arlet., 2012).
- **Groupe 6 (BLSE de bas niveau/BLSE inductible)** possèdent une résistantes aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} génération et au céfuroxime. Elles sont sensibles aux associations de pénicillines-inhibiteurs des β -

lactamases. Elles restent habituellement sensibles aux uréïdopénicillines et aux céphalosporines de 3^{ème} génération (Robin et al., 2012).

Tableau 3. Phénotypes de résistance naturelle des entérobactéries (Philippon et Arlet., 2012)

Entérobactéries: phénotype de résistance naturelle	
Première approche phénotypique	Nouvelle approche phénotypique
Groupe 0	<i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella sp.</i>
Groupe 1 <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Shigella sp.</i> <i>Salmonella sp.</i>	<i>E. coli</i> , <i>Shigella sp.</i>
Groupe 2 <i>K. Pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> <i>L. malonatica</i>	<i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>C. koseri</i> <i>C. arnalonaticus</i> , <i>E. hermannii</i>
Groupe 3 <i>C. freundii</i> , <i>E. cloacae</i> <i>E. aerogenes</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>E. Agglomerans</i> , <i>E. hafniae</i> , <i>P. retigeri</i> <i>P. stuartii</i> , <i>P. vulgaris</i>	<i>C. freundii</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i> <i>M. morgani</i> , <i>P. agglomerans</i> <i>E. hafniae</i> , <i>P. retigeri</i> , <i>P. stuartii</i>
Groupe 4 <i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. enterocolitica</i> , <i>S. fonticola</i>
Groupe 5	<i>P. vulgaris</i> , <i>P. penneri</i>
Groupe 6	<i>K. ascorbata</i> , <i>K. cryocrescens</i> <i>K. Georgiana</i> , <i>R. aqualitils</i> <i>E. persicina</i>

5.2.2 Résistance acquise ou phénotype de résistance

○ Pénicillinase acquise

La production de pénicillinase acquise confère différents niveaux de résistance en fonction de la quantité d'enzyme produite. Le phénotype peut donc varier entre une résistance limitée aux amino et carboxypénicillines, qui nécessitera une interprétation des résultats des uréïdopénicillines de sensible en intermédiaire, et une résistance à haut niveau à toutes les pénicillines associées ou non aux inhibiteurs de β -lactamases et aux céphalosporines de 1^{ère} génération, voire celles de 2^{ème} génération (Robin et al., 2012).

- **Pénicillinase résistant aux inhibiteurs**

Les pénicillinases résistantes aux inhibiteurs sont principalement de type TEM (TRI). Elles confèrent généralement une résistance aux amino et carboxypénicillines seules ou en association avec les inhibiteurs.

Les enzymes résistantes aux inhibiteurs de type OXA (β -lactamases de classe D) sont responsables d'un plus haut niveau de résistance incluant l'association pipéracilline-tazobactam, souvent une sensibilité intermédiaire aux céphalosporines de 1^{ère} génération (C1G) et parfois une résistance intermédiaire aux céphalosporines de 4^{ème} génération (C4G) (**Oumou, 2005**).

- **β - lactamase à spectre étendu**

Les β - lactamases à spectre étendu (BLSE) confèrent habituellement aux bactéries un phénotype de résistance aux pénicillines, aux céphalosporines de première, deuxième et troisième génération ainsi qu'au céfépime et à l'aztréonam. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique. Trois types de BLSE sont prépondérants : il s'agit de TEM, SHV et CTX-M. Les BLSE de type TEM et SHV dérivent de TEM-1 et SHV-1, en revanche les BLSE de type CTX-M retrouvées dans les entérobactéries dérivent des β -lactamases chromosomiques d'espèces du genre *Kluyvera* (**Vodovar et al., 2012**). Parmi les isolats cliniques des entérobactéries, les CTX-M peuvent compromettre l'efficacité de toutes les β -lactames, excepté des cephamycines et des carbapénèmes. Plus de 65 génotypes de CTX-M ont été décrits dans le monde. Parmi eux, le gène du bla CTX-M 15 a récemment émergé comme type dominant (**Baba Ahmed et al., 2012a**). L'enzyme CTX-M-15, comme CTX-M-16 et CTX-M-19, confère une résistance plus élevée au ceftazidime que d'autres BLSE de type CTX-M (**Baba Ahmed et al., 2012b**).

- **Céphalosporinase à haut niveau**

L'hyperproduction d'une céphalosporinase confère une résistance à au moins une C3G. Une résistance est observée à toutes les pénicillines seules ou en association avec des inhibiteurs ainsi qu'à toutes les céphalosporines de 2^{ème} génération (C2G) et aux cephamycines. Ce phénotype est principalement observé chez les entérobactéries du groupe 3 en cas de dérégulation partielle ou totale du gène codant leur céphalosporinase naturelle. L'acquisition de céphalosporinases plasmidiques peut engendrer le même phénotype de résistance (**Mayoral et al., 2010**).

5.3. Résistance aux carbapénèmes

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des β -lactamases. Le premier mécanisme associé à la production d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des protéines transmembranaires que sont les porines. Plus récemment, des mécanismes de résistance aux carbapénèmes, en fait assez similaires, ont été décrits combinant une céphalosporinase plasmidique (DHA-1, CMY-2...) ou une BLSE (TEM, SHV, CTX-M) à une imperméabilité dans des espèces d'entérobactéries qui n'expriment pas naturellement de céphalosporinase (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella*). Le second mécanisme de résistance aux carbapénèmes est lié à l'expression de β -lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, les carbapénémases (Nordmann et Carrer., 2010).

6. Résistance des entérobactéries aux aminosides

Il a été établi que les bactéries résistent aux aminosides par trois grands mécanismes :

- **Diminution d'entrée** : La résistance aux aminoglycosides consécutive à une diminution de l'entrée peut être intrinsèque ou acquise. La diffusion d'aminoglycosides à travers la membrane cytoplasmique peut être réduite par le potentiel électrique établi par le système de transport d'électrons qui réduit la concentration intracellulaire de ces composés (Roy, 2000).
- **Altération de la cible** : La résistance aux aminoglycosides peut être conférée par différents changements mutationnels de leur cible (Roy, 2000).
- **Inactivation enzymatique** : Cette modification structurale consiste en l'ajout d'un groupement sur les positions aminées ou hydroxylées des aminoglycosides ce qui empêche leur fixation sur le site A. Ce groupement peut être un groupement (Lambert, 1997).

7. Résistance des entérobactéries aux quinolones

La résistance aux quinolones est principalement chromosomique, généralement due à une diminution d'affinité de l'antibiotique pour sa cible. Ceci est dû à une modification de l'ADN gyrase et/ou de la topoisomérase IV par mutations ponctuelles.

La résistance des entérobactéries aux quinolones est liée non seulement à des mécanismes de résistance de support chromosomique transmissibles verticalement mais aussi à des gènes de support plasmidique transférables horizontalement.

Chez les entérobactéries, la résistance aux fluoroquinolones est principalement due à un défaut d'affinité de la cible. Les topo-isomérases, cibles des quinolones, à savoir ADN gyrase et topoisomérase IV, peuvent après mutation des gènes correspondants être l'objet de modification en acides aminés. Plus rarement cette résistance peut être due à des phénomènes d'efflux (**Merensa et Servonneta., 2010**).

8. Résistance des entérobactéries aux polymyxines

Les bactéries à Gram négatives peuvent développer la résistance par les mécanismes qui sont communs pour la colistine et les polymyxines B. Le mécanisme le plus important comporte des modifications de la membrane externe bactérienne, principalement par le changement de la partie de LPS. Cependant, d'autres modifications de la membrane externe bactérienne peuvent conférer la résistance à la polymyxine. Un autre mécanisme incluant le développement d'un système d'efflux pompe/potassium a été trouvée chez certaines espèces de *Yersinia* (**Matthew et al., 2010**).

PARTIE II.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Souches étudiées

Sont inclus dans cette étude le groupe des entérobactéries isolées à partir de divers prélèvements au niveau du service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen.

1.1.2. Souches de références

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Klebsiella pneumoniae* KPC-1
- *Klebsiella pneumoniae* NDM-1
- *E. coli* K-12
- *E. coli* ATCC 25922

1.2. Milieux de culture

1.2.1. Milieux liquide

- Bouillon nutritif (Fluka)
- Bouillon Cœur cerveau (BHIB) (Fluka)

1.2.2. Milieux solide

- Gélose nutritif
- Mac Conkey (Fluka)
- Mueller Hinton (Fluka)
- TSI

1.3. Tests biochimiques

- ✓ Galerie API 20 E (**Bio Mérieux**)
- ✓ Disques d'oxydase

1.4. Antibiotiques

1.4.1. En disque

Amoxicilline (AMX), Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC), Céfotaxime (CTX), Ceftazidime (CAZ), Ertapénème (ERTA), Aztréonam (ATM), Imipénème (IMP), Céfoxitine

(FOX), Gentamicine (GEN), Amikacine (AN), Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP), Norfloxacine (NOR), Colistine (CS), Rifampicine (RI).

1.4.2. En poudre

Aztréonam, Acide nalidixique, Cloxacilline (Orbénine 1g), Céfotaxime, Ceftazidime, Amikacine, ciprofloxacine, Céfépime, Rifampicine.

2. Méthodes

2.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués par écouvillonnage soit à partir des surfaces (poignet de porte, main du personnel, tenue du personnel, instrument chirurgical...etc) et à partir des patients (cathéter, sonde urinaire, plaie, urine...etc), ces derniers sont introduits dans 5 ml de bouillon nutritif, puis acheminés au laboratoire pour être incubés 24 heures à 37°C.

2.2. Souches bactériennes

2.2.1. Isolement et identification

L'isolement est réalisé sur gélose Mac Conkey, milieu sélectif pour les entérobactéries et on porte à incubation pendant 24 heures à 37°C.

Les entérobactéries sont identifiées à l'aide de galeries Api 20 E (figure 5) (**Marchal et al., 1987**).

La galerie Api 20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée, qui permettent de réaliser 20 tests biochimiques, les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne, pour certains caractères comme le CIT, VP, GLU il faut remplir cuve et cupule et pour ADH, LDC, ODC, H₂S, il faut ajouter l'huile de paraffine pour crée l'anaérobiose. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages de couleurs ou révélées par l'ajout des réactifs.



Figure 5. Plaque API 20 E (Bio Mérieux)

La lecture des réactions obtenues est réalisée à l'aide du tableau de lecture (annexe 1) et l'identification à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique (annexe 2).

2.2.2. Test d'oxydase

- **Principe**

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.

- **Technique**

Ce test est réalisé en ajoutant un disque d'oxydase à une suspension bactérienne épaisse en eau physiologique.

- **Lecture**

La réaction est positif lorsque il n'ya pas de changement de couleur car les entérobactéries se caractérise par absence d'oxydase.

2.3. Test TSI

2.3.1. Principe

Ce milieu permet d'étudier la fermentation des sucres, il se traduit par la production ou non de gaz et d' H_2S .

2.3.2. Technique

La technique consiste à ensemencer par strie sur la pente de la gélose suivie par une pique centrale du culot.

2.3.3. Lecture

La fermentation du glucose se traduit par le changement de couleur vers le jaune, la production de gaz se traduit par formation de bulle de gaz dans la masse du culot, la production H_2S se traduit par le noircissement du milieu.

2.4. Antibiogramme (CA-SFM, 2010)

2.4.1. Principe

L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classe semi quantitatives (sensible, intermédiaire ou résistant) et d'orienter le traitement antibiotique. Il est basé sur

l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotique obtenu par diffusion à partir de disques dans un milieu gélosé.

2.4.2. Préparation d'inoculum

Pour chacun des souches à tester, réaliser une suspension en ensemençant 2 ml d'eau physiologique stérile par 3 à 4 colonies à partir d'une souche pure. La culture obtenue doit être de densité optique 0.08 – 0.1 à 625nm.

2.4.3. Ensemencement

- Diluer la suspension d'inoculum au 1/100 dans de l'eau physiologique
- Ensemencer par inondation (ou par écouvillonnage) sur milieu Mueller Hinton.
- Rejeter l'excès puis sécher les boîtes 20 à 30 minutes à l'étuve.

2.4.4. Application des disques

Déposer les disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince stérile en suivant le schéma de VEDEL pour les entérobactéries (figure 6).

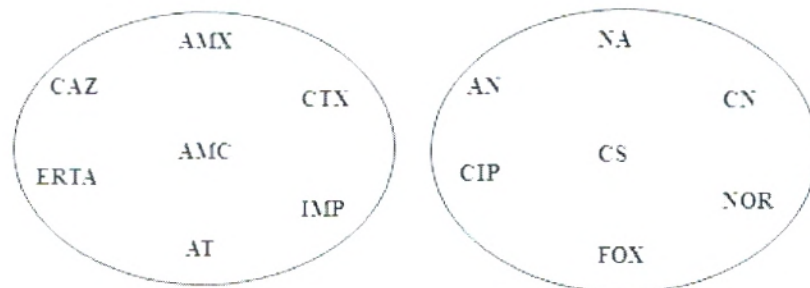


Figure 6. Disposition des disques d'antibiotiques sur les boîtes d'antibiogrammes

2.4.5. Lecture

Après 24 heures d'incubation, mesurer les diamètres d'inhibition et se référer aux valeurs critiques de CA-SFM (annexe 3), ensuite interpréter les phénotypes de résistance.

2.5. Test à la cloxacilline

2.5.1. Principe

La cloxacilline est un antibiotique qui permet d'inhiber les β -lactamases de type AmpC. Il permet de confirmer le phénotype céphalosporinase.

2.5.2. Technique

Réaliser un antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller Hinton contenant de la cloxacilline à une concentration finale de 250 µg/ml et de 500 µg/ml.

2.5.3. Lecture

Un résultat positif est noté lorsqu'une augmentation des diamètres d'inhibition autour des disques Cefotaxime et de Céfotaxime est observée.

2.6. Test de synergie (Robin et al., 2012)

2.6.1. Principe

La démonstration phénotypique de la présence d'une β-lactamase à spectre élargi consiste à mettre en évidence une image de synergie entre un disque de céphalosporine de troisième génération et l'acide clavulanique.

2.6.2. Technique

Appliquer sur gélose Mueller Hinton, préalablementensemencée par la souche à tester, déposé un disque céphalosporine de troisième génération comme exemple cefotaxime ou céfotaxime à une distance de 1cm et ½ avec un disque d'amoxicilline + acide clavulanique.

2.6.3. Lecture

Un résultat positif se traduit par une image de synergie entre les deux disques (figure 7).



Figure 7. Schéma d'une image de synergie

2.7. Méthode E. test (Jean Noel et Guy., 2001)

E. test est un système de détermination de la CMI en milieux solide. Une bandelette est imprégnée de quantités croissantes d'antibiotiques. Elle est placée sur une gélose pour antibiogrammeensemencée classiquement ; l'antibiotique diffuse en formant un gradient important, la zone d'inhibition à la forme d'une ellipse et la lecture est alors directe sur la bandelette la ou celle-ci rencontre la zone d'inhibition.

2.8. Détermination des CMI en milieux solide

2.8.1. Principe

La méthode de dilution en milieu solide est la méthode qui permet d'évaluer la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques.

2.8.2. Technique

- **Préparation des solutions d'antibiotiques**

Pour chacun des antibiotiques préparer une solution mère à 5120 mg /ml puis réaliser des dilutions sériées de progression géométrique.

- **Préparation des boites**

- Distribuer 2ml de chaque dilution dans des boites.
- Ajouter 18 ml de Mueller-Hinton gélosé maintenu en surfusion à 45°C.
- Homogénéiser et laisser les boites se solidifier à la température du laboratoire.
- sécher les boites à 37°C pendant 30 minutes à l'étuve.

- **Préparation de l'inoculum**

Préparer des suspensions de densité de 10^8 UFC/ml pour chacune des souches à tester.

- **Ensemencement**

- Diluer la suspension au 1/10.
- Ensemencer par spot 2µl, soit un inoculum de 10^4 UFC/spot.

- **Lecture**

La lecture se fait après 24 heures d'incubation. La CMI est la plus faible concentration pour laquelle la croissance est inhibée.

2.9. Test de Hodge (Gallusser Lausanne, 2001)

2.9.1. Principe

Test phénotypique initialement mis au point pour permettre la détection de pénicillinases, est largement utilisée pour la détection des carbapénémases.

2.9.2. Technique

- Préparer une suspension d'*Escherichia coli* ATCC25922 de 10^8 UFC/MI.
- Ensemencer par écouvillonnage sur une gélose Mueller Hinton.
- Faire une lourde strie de la souche à tester à partir d'un prélèvement de quelques colonies d'une culture sur milieu Mueller Hinton du centre vers la périphérie.
- Et dans une autre ligne ensemencé un témoin positif *Klebsiella pneumoniae* NDM-1 et un témoin négatif *Klebsiella pneumoniae* (KPC-1).
- Sécher les boîtes 15 minutes.
- Déposer un disque d'imipénème au centre.
- Incuber 24 heures à 37°C.

2.9.3. Lecture

L'hydrolyse de l'imipénème par la souche à tester se traduit par l'échancrure de la zone d'inhibition (figure 8).

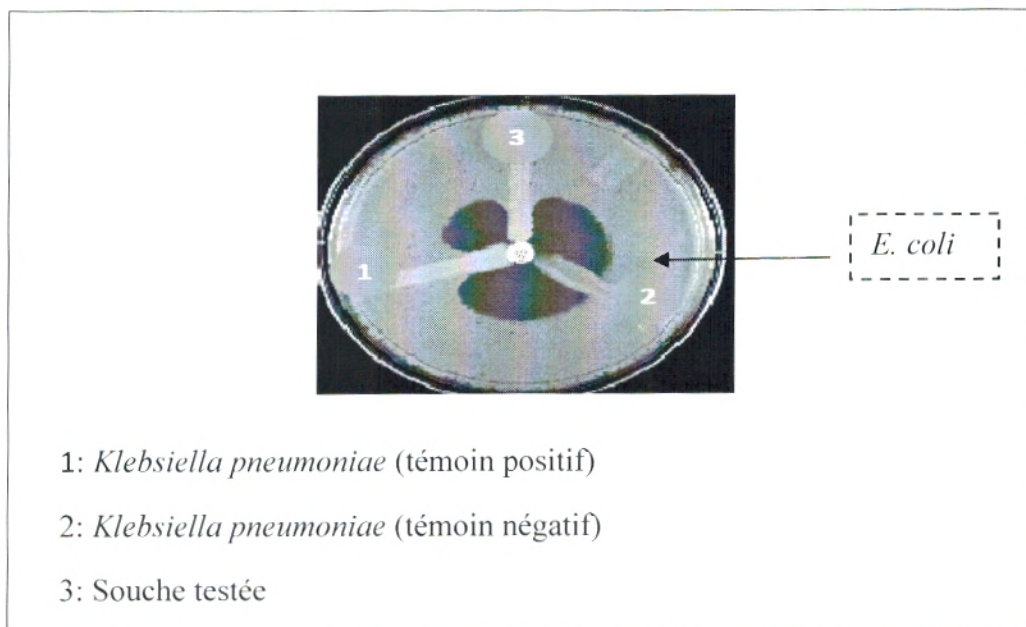


Figure 8. Lecture du test de Hodge (Gallusser Lausanne, 2001)

2.10. Test IMP- EDTA (Robin et al., 2012)

2.10.1. Principe

Il permet de différencier entre les métallo- β -lactamases et les autres carbapénèmases.

2.10.2. Technique

Elle consiste soit de déposer 4 μ l d'EDTA 0.5M, pH 8, sur un disque d'imipénème soit 10 μ l d'EDTA 0.5M, pH 8, sur un disque blanc placé 1cm et $\frac{1}{2}$ bord avec un disque d'imipénème.

2.10.3. Lecture

Un résultat positif se traduit par un accroissement de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème supplémenté d'EDTA pour la première méthode et une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui de l'EDTA pour la deuxième (figure 9).



Figure 9. Schéma du test IMP-EDTA

2.11. Transfert des gènes de résistance : conjugaison (Tichat, 1995)

2.11.1. Principe

La conjugaison représente le phénomène de contact physique par lequel les plasmides peuvent passer d'une souche donatrice à une souche réceptrice.

2.11.2. Technique

- Ensemencer la souche réceptrice et les souches donatrices en bouillon BHIB et incubé 18 à 24 heures à 37°C.
- Réaliser un mélange donatrice réceptrice dans un rapport $\frac{1}{2}$.
- Mélanger doucement.
- Incuber 18 à 24 heures.
- Réaliser des dilutions de 10^{-1} et 10^{-2} du mélange.
- Ensemencer par strie le mélange et chaque dilution sur un milieu de sélection.

- Vérifier la sélectivité des milieux de sélection en ensemençant la souche donatrice et la souche réceptrice sur la même boîte.
- Incuber 24 heures à 37°C.

2.11.3. Lecture

Sur les boîtes de sélection, la souche donatrice et la souche réceptrice ne doivent pas se développer ; seules les bactéries résistantes à l'antibiotique de sélection sont capables d'y croître. Réaliser des antibiogrammes et/ou des CMI sur les transconjugants.

2.12. Amplification par réaction de la polymérisation en chaîne (PCR) (Borde, 2006)

2.12.1. Principe

La réaction PCR (Polymerase Chain Reaction) permet d'amplifier *in vitro* une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier. Pour se faire, une série de réactions permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle. Ainsi, au cours de la réaction PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle.

2.12.2. Technique

- **Préparation de la réaction**

Chaque réaction d'amplification comprend un volume final de 50 µl incluant : 5 µl de tampon 3 µl de MgCl₂ 25 mM, 0.5 µl dNTPs (dATP, dGTP, dTTP et dCTP), 2 µl d'amorces, 40 µg d'ADN et une unité de Taq polymérase (0.25 µl). Le volume final de l'échantillon est complété par l'ajout d'eau stérile.

- **Extraction d'ADN**

L'extraction d'ADN se fait par l'ensemencement d'une colonie dans 200 µl d'eau ultra pure puis mélanger bien à l'aide d'un vortex.

- **Réaction d'amplification**

La réaction d'amplification, à l'aide d'un thermocycleur débute avec une étape de dénaturation de l'ADN, effectuée à 94°C sur une période de 10 min. suivie d'une étape d'hybridation des amorces à 40°C à 45°C.

L'étape suivante consiste à amplifier l'ADN ce qui est fait sur une période de 30 cycles. Chaque cycle comprend: 1 minute de dénaturation (94°C), Suite à ces cycles d'amplification, la réaction se termine par une période additionnelle d'élongation de 10 min. à 72°C.

- **Analyse par migration sur gel d'agarose**

L'évaluation de la taille de différents fragments d'ADN est rendue possible suite à la migration électrophorétique des échantillons sur un gel d'agarose.

La technique fait appel à la préparation d'un gel composé à la fois d'agarose et de tampon TBE 1X (0.09 M Tris, 0.09 M Acide borique, 0.002 M EDTA). Une quantité précise d'agarose, préétablie en fonction de la taille estimée des fragments d'ADN à séparer, est mélangée à 100 ml de TBE 1X et chauffée jusqu'à dissolution. L'ajout de bromure d'éthidium (0.25 µd ml) permet de visualiser l'ADN.

La solution est ensuite coulée dans un moule comprenant un nombre déterminé de puits.

Une fois le gel figé, il est déposé dans une chambre à électrophorèse comprenant du tampon de migration (TBE). Les échantillons d'ADN, sont déposés dans les puits et soumis à un voltage de 120V pour une période d'environ 1h. À la fin de la migration, le gel est photographié et la taille des fragments d'ADN est comparée à deux différentes échelles, de 100 pb ou de 1 kb.

PARTIE III.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

1.1. Prélèvements

Sur une période de 5 mois allant de la date du (27/12/2012 jusqu'au 02-05-2013), 53 prélèvements ont été réalisés à partir du service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen, dont 38 prélèvements ont été réalisés à partir de l'environnement et 15 à partir de patients.

1.2. Souches bactériennes

Prélèvements à partir de l'environnement

Sur les 38 prélèvements provenant de l'environnement, 23 souches ont été isolées à partir du service et 5 à partir du bloc opératoire.

Les 28 souches isolées appartenaient toutes à la famille des entérobactéries (figure 10, tableau 4). Les résultats d'identification par galerie Api 20 E ont permis de collecter 12 espèces différentes (figure 12).

Tableau 4. Résultats d'identification des souches isolées à partir des prélèvements de l'environnement

Service	Type de prélèvements	Souches identifiées	Nombre de souches isolées	% de souches isolées
Neurochirurgie	Environnement	<i>Enterobacter cloacae</i>	3	10.71%
		<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	7.14%
		<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	3.57%
		<i>Serratia marcescens</i>	1	3.57%
		<i>E. coli</i>	5	17.85%
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	17.85%
		<i>Citrobacter braakii</i>	2	7.14%
		<i>Pantoea spp 4</i>	1	3.57%
		<i>Pantoea spp 3</i>	2	7.14%
		<i>Pantoea spp 2</i>	2	7.14%
		<i>Leclercia adecarboxylata</i>	1	3.57%
		<i>Rahnella aquatilis</i>	2	7.14%
		<i>E. coli 1</i>	1	3.57%
Totale	38 dont 10 négatifs		28	73.68

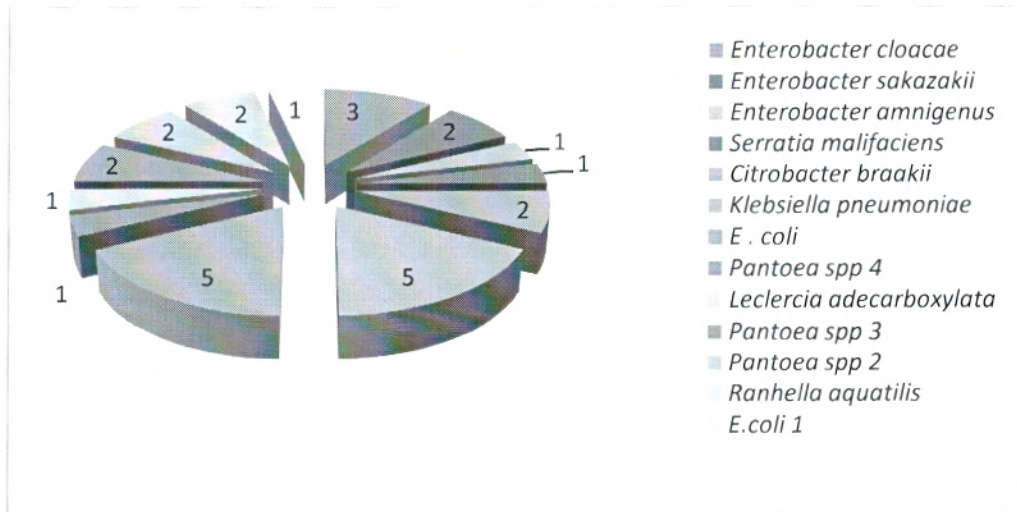


Figure 10. Répartition des souches isolées à partir des prélèvements de l'environnement

Prélèvements à partir de patients

15 prélèvements ont été effectués à partir de patients hospitalisés au niveau du service de neurochirurgie, dont 5 à partir des cathéters, 2 à partir des sondes urinaires, 3 à partir des plaies, 2 à partir des prélèvements nasaux, et 3 à partir des prélèvements urinaires.

Au totale, 8 souches ont été isolées et identifiées par galerie API 20 E (figure 12). Les 8 souches isolées appartenaient toutes à la famille des entérobactéries (figure 11, tableau 5).

Tableau 5. Résultats d'identification des souches isolées à partir des prélèvements sur les patients

Service	Type de prélèvements	Souches identifiées	Nombre de souches identifiées	% des souches identifiées
Neurochirurgie	Patients	<i>Proteus mirabilis</i>	1	12.5%
		<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	12.5%
		<i>Enterobacter cloacae</i>	3	37.5%
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	25%
		<i>E. coli 1</i>	1	12.5%
Totale	15 dont 9 négatifs		8	53.33

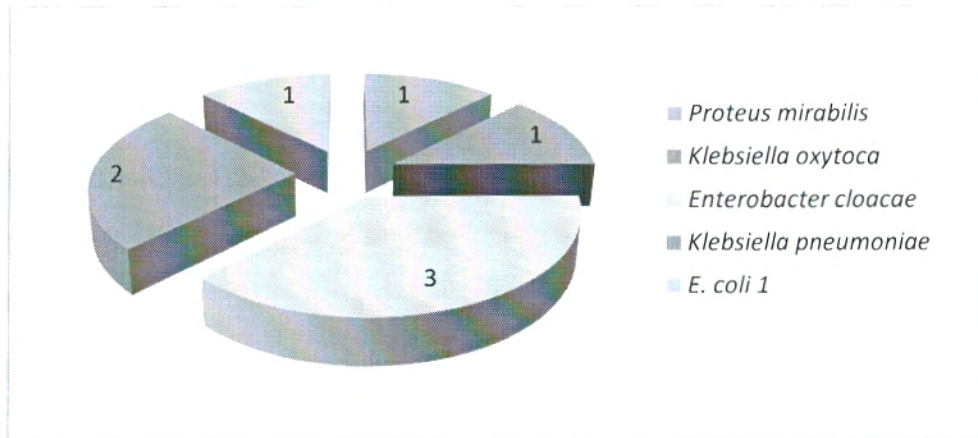
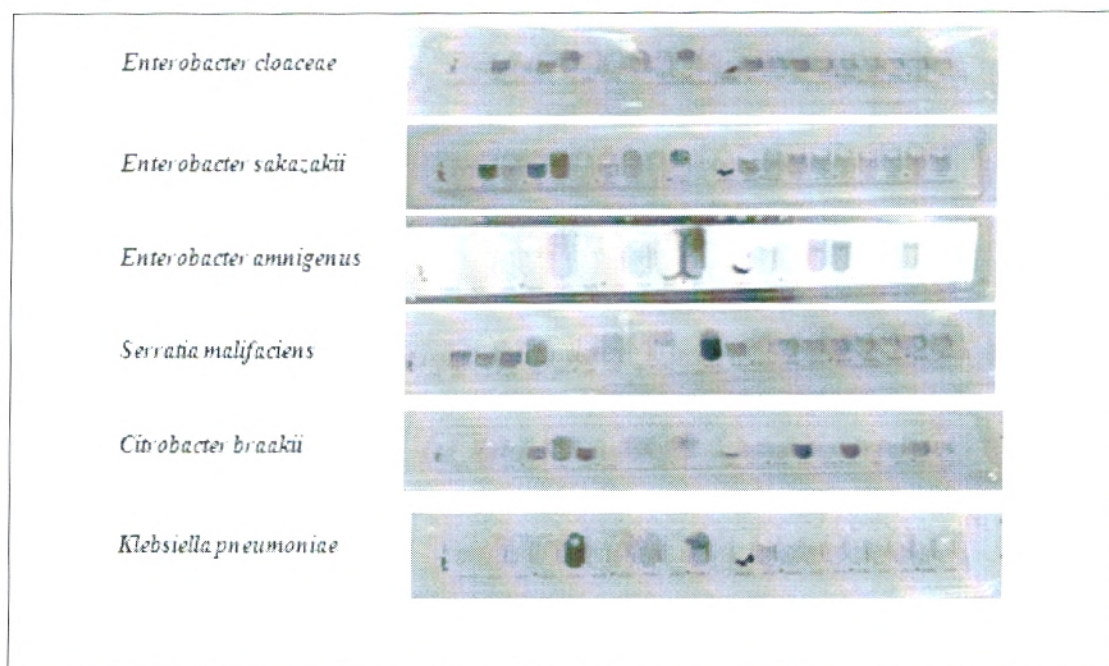


Figure 11 : Répartition des souches isolées à partir des prélèvements sur les patients

Au total, 36 entérobactéries ont été isolées à partir de divers types de prélèvements avec une fréquence de 67.92%.



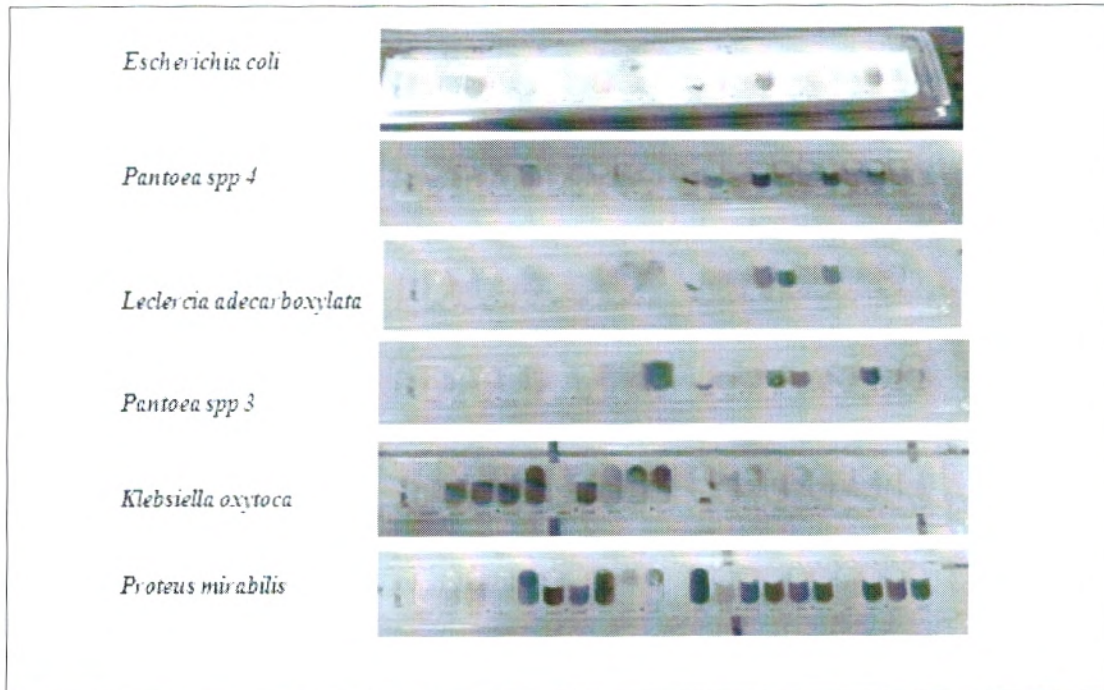


Figure 12. Illustration de l'identification par galerie API 20 E des espèces d'entérobactéries isolées

1.3. Etude de la résistance aux antibiotiques

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton et interprété après la mesure des diamètres d'inhibition selon les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CA-SFM (Annexe 9). Le taux de résistance aux antibiotiques des 36 souches isolées (figure 13) est comme suivant: amoxicilline (100%), amoxicilline + acide clavulanique (83.33%), céfotaxime (75%), céftazidime (72.22%), ertapénème (36.11%), aztreonam (69.44%), céfoxitine (30.55%), gentamicine (44.44%), amikacine (16.66%), acide nalidixique (47.22%), ciprofloxacine (41.66%), norfloxacine (50%), colistine (5.55%) dont une *Pantoea spp 2* et une *Proteus mirabilis* (résistance naturelle). Toutes les souches isolées étaient sensible à l'imipénème.

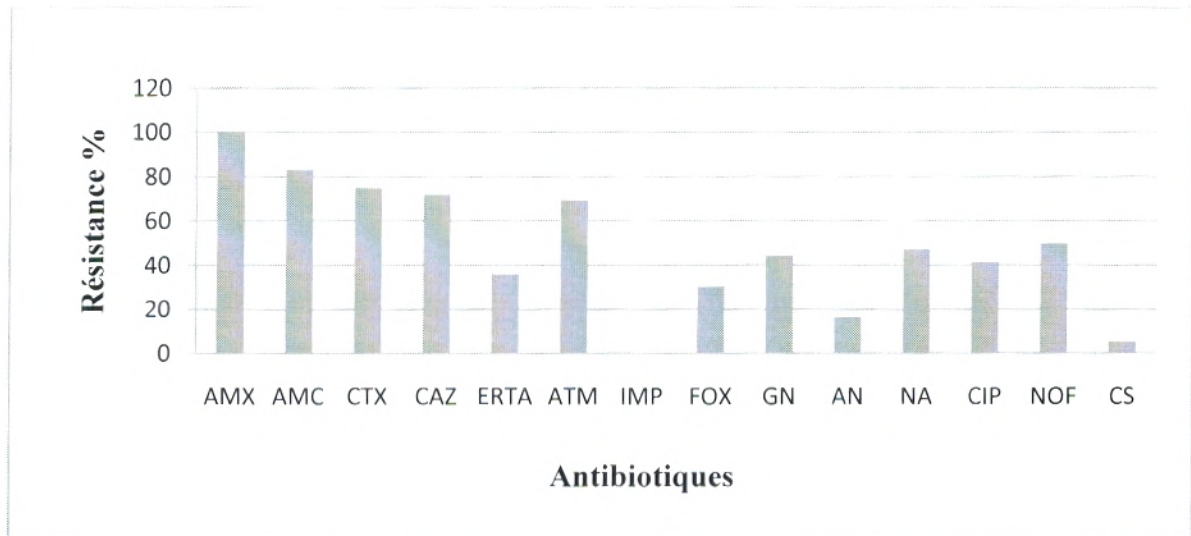


Figure 13. Pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches isolées au niveau du service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen

1.4. Répartition des mécanismes de résistances aux β -lactamines

La répartition des mécanismes de résistance aux β -lactamines vis-à-vis de l'ensemble des souches était comme suivant : (figure 14).

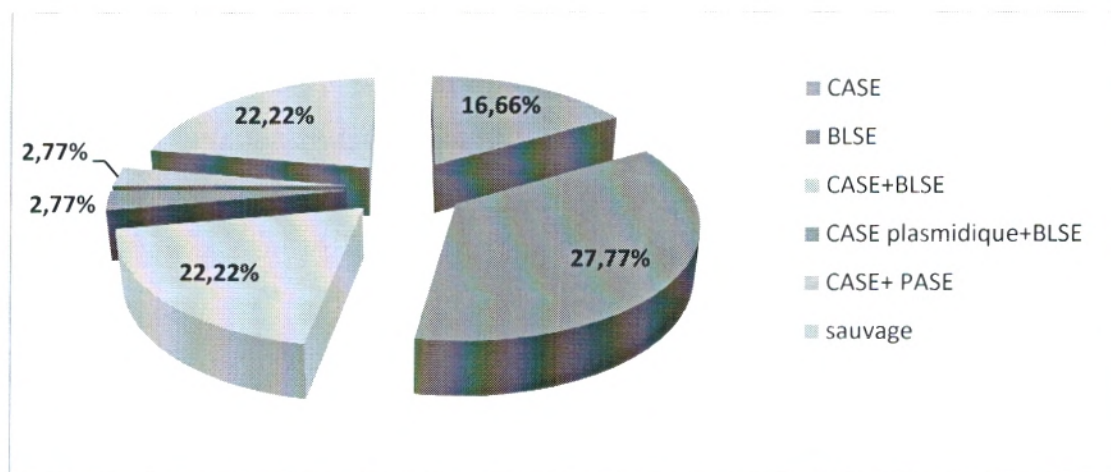


Figure 14. Répartition des mécanismes de résistance des souches isolées au niveau du service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen

La production de la céphalosporinase a été observée chez 6 souches avec un pourcentage de 16.66%. Une souche est dite productrice de céphalosporinase lorsqu'elle présente une résistance aux pénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} génération, de 2^{ème} génération et parfois de 3^{ème} génération (figure 15).

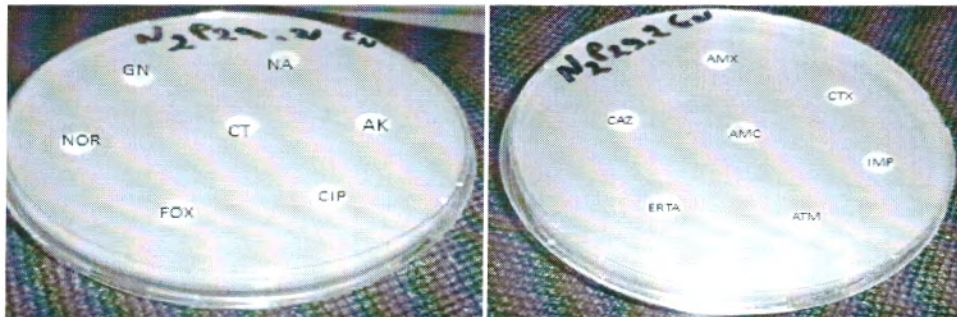


Figure 15. Illustration d'une production de la céphalosporinase

Le phénotype céphalosporinase a été confirmé par la restauration de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération en présence d'une concentration définie de cloxacilline. En pratique, le test se traduit par l'augmentation du diamètre des zones d'inhibition au tour des β -lactamines testés (figure 16).

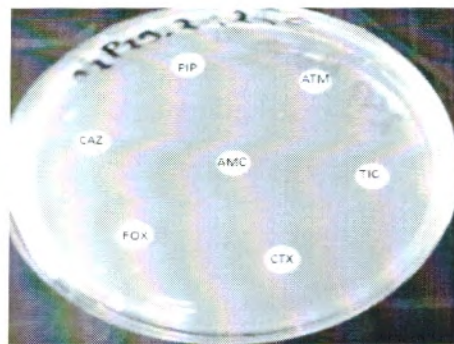


Figure 16. Résultats du test à la cloxacilline

Le phénotype BLSE a été observé chez 13 souches avec un pourcentage de 36.11%. Ce phénotype est confirmé par l'apparition d'une image de synergie entre les céphalosporines de 3^{ème} génération et l'acide clavulanique (figure 17).

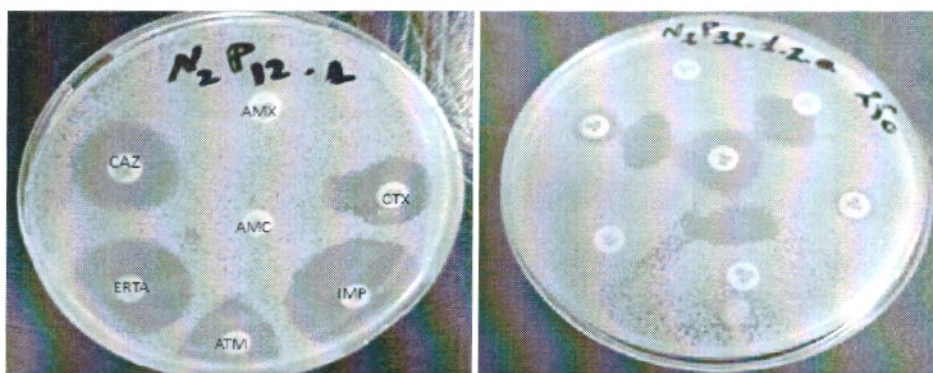


Figure 17. Illustration de la production d'une BLSE (formation d'une image de synergie entre AMC et CTX, ATM, CAZ)

La production d'une céphalosporinase associée au phénotype BLSE a été observée chez 7 souches avec un pourcentage de 19.44%. Ce phénotype est révélé lorsque il ya une formation d'une image de synergie entre les céphalosporines de 3^{ème} génération et l'acide clavulanique suite au test à la cloxaciline (500µg/ml) (figure 18).

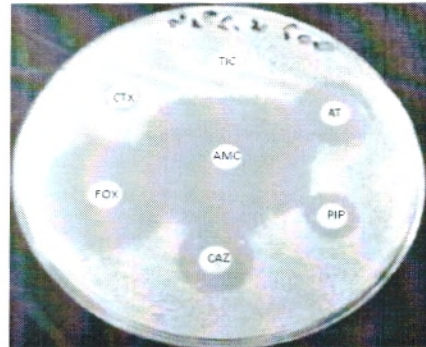


Figure 18. Illustration d'une production de la céphalosporinase associée au phénotype BLSE suite au test à la cloxaciline

La production d'une céphalosporinase plasmidique associée au phénotype BLSE a été observée chez une souche de *Serratia malifaciens* (N1P23). Ce phénotype se caractérise par une image d'antagonisme entre le céfotaxime et la céfoxitine (figure 19).

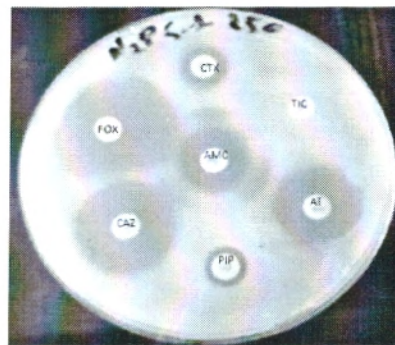


Figure 19. Illustration d'une production de la céphalosporinase plasmidique associée à une production de BLSE

La production d'une céphalosporinase associée à une pénicillinase a été observée chez une souche *E.coli* (N1P1). Ce phénotype est confirmé par un test à la cloxaciline. Après inhibition de la céphalosporinase, le phénotype pénicillinase se dévoile (figure 20).

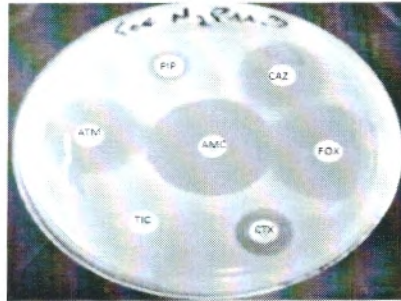


Figure 20. Illustration d'une production de la céphalosporinase associée à une pénicillinase

Les souches qui ont présentées une sensibilité vis-à-vis des β -lactamines et des autres antibiotiques sont considérées de phénotype sauvage, leur pourcentage a été de 22.22%.

1.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Selon le tableau 6, près de la totalité des souches testées ont été résistantes au céfotaxime (100%), à l'aztreonam (92.30%), et au céfépime (84.61%) avec des CMI allant de 16 à 512 $\mu\text{g/ml}$. La moitié des souches ont été résistantes à la céftazidime (53.84%) avec des CMI allant de 32 à 512 $\mu\text{g/ml}$, et à la céfoxitine (46.15%) avec des CMI allant de 64 à 512 $\mu\text{g/ml}$. Un faible taux de résistance a été noté pour l'amikacine (15.38%) avec des CMI allant de 32 à 128 $\mu\text{g/ml}$ et pour la ciprofloxacine (38.46%) avec des CMI allant de 4 à 128 $\mu\text{g/ml}$.

Tableau 6. Résultats des CMI

Code	CTX $\leq 1 > 2$	CAZ $\leq 1 > 8$	ATM $\leq 1 > 8$	FEP $\leq 1 > 8$	FOX $\leq 8 > 32$	AN $\leq 2 > 16$	CIP $\leq 0.5 > 1$	Mécanismes suspectés
N1P1	256	8	64	16	4	8	<0,125	CASE +PASE
N2P2	512	8	32	16	4	8	<0,125	BLSE
N1P3	>512	128	>512	512	16	4	128	BLSE
N1P4	512	>512	>512	256	64	8	128	CASE
N1P7	512	32	512	32	>512	8	4	BLSE +CASE
N1P9	512	64	>512	32	256	128	1	CASE +BLSE
N1P15	>512	>512	>512	>512	128	8	<128	BLSE
N1P16	512	32	128	32	4	8	4	BLSE
N1P21	512	8	32	16	1	8	<0,125	BLSE
N2P22	256	>512	>512	256	32	16	<0,125	CASE +BLSE
N1P23	128	1	32	16	32	4	<0,125	CASE plasmidique +BLSE
N1P24	64	4	32	4	>512	32	0,25	BLSE
N1P25	128	8	2	4	512	16	<0,125	BLSE

Des bandelettes E-test ont été utilisées afin de vérifier la CMI vis-à-vis de la colistine et de l'imipénème pour *Pantoea spp 2* (N2P33.2) et *Pantoea spp 4* (N2P29.2).

Selon les figures 21 et 22, la valeur de CMI pour la colistine a été $> 258 \mu\text{g/ml}$ pour la souche *Pantoea spp 2*, $125 \mu\text{g/ml}$ vis-à-vis de la colistine et $25 \mu\text{g/ml}$ vis-à-vis de l'imipénème pour la souche *Pantoea spp 4*.

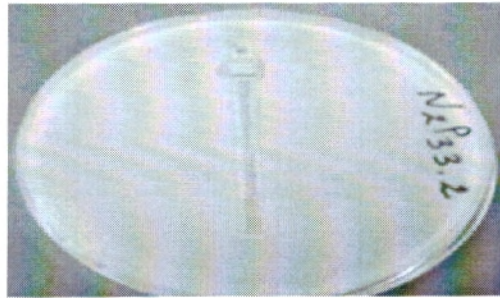


Figure 21. Mesure de la CMI par l'utilisation de bandelette E-test de colistine (*Pantoea spp 2*)

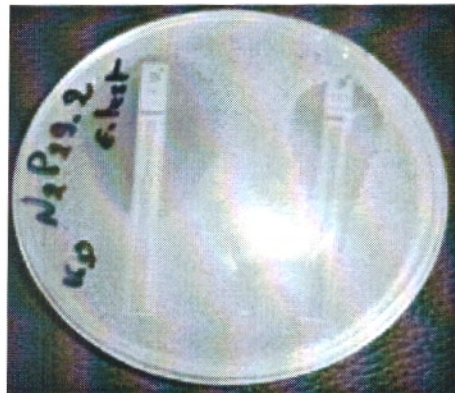


Figure 22. Mesure des CMI par l'utilisation des bandelettes E-test pour l'imipénème et la colistine (*Pantoea spp 4*)

1.6. Recherche d'enzymes ayant une activité cabapénèmases

Le test de Hodge permet de mettre en évidence l'enzyme à activité cabapénèmase pour les souches ayant une résistance à l'imipénème et à l'ertapénème. Une souche est révélée positive (figure 23).

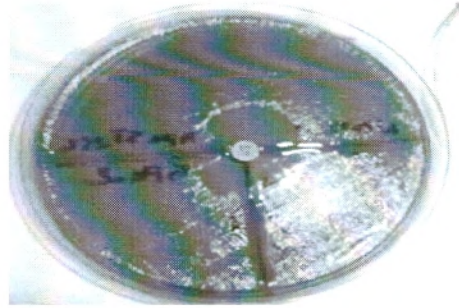


Figure 23. Résultat du test de Hodge

Le test IMP-EDTA permet de mettre en évidence la production des métallob β -lactamases. Les souches testées n'ont pas montré un accroissement de la zone d'inhibition autour du disque contenant l'IMP + EDTA, et aucune image de synergie n'a été observée (figure 24). Les souches testées ne possédaient pas de métallob β -lactamases conférant la résistance à l'imipénème.

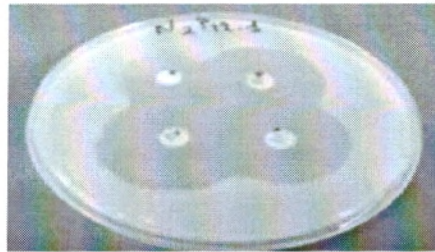


Figure 24. Résultat du test d'IMP-EDTA

1.7. Résultat de conjugaison

Afin de déterminer le support génétique de la résistance aux antibiotiques, des expériences de conjugaison ont été réalisées entre la souche de référence *Escherichia coli* résistante à la rifampicine (K12 Rif R) et 13 souches d'entérobactéries. Sur les 13 souches testées, 3 souches productrices de BLSE ont transféré leur résistance à la souche de référence *E.coli* (figure 25).

Les transconjugants obtenus ont été sélectionnés sur gélose Mac Conkey contenant du céfotaxime et de la rifampicine à des concentrations finales de 16 $\mu\text{g/ml}$ et de 256 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. Les résultats d'antibiogramme (figure 26) obtenus pour les transconjugants sont rapportés dans le tableau 7.

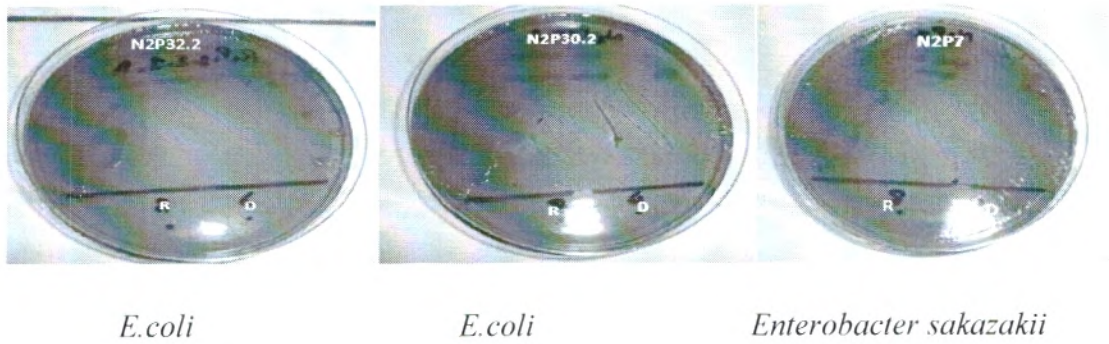


Figure 25. Résultats de la conjugaison

Tableau 7. Résultats d'antibiogramme obtenus pour les transconjugants

Code	Souches	TCC	CRO	FOX	RA	CAZ
N1P21	<i>Enterobacter sakazakii</i>	R	R (s)	S	R	S (s)
N1P2	<i>E.coli</i>	R	R (s)	S	R	S (s)
N1P3	<i>E.coli</i>	R	R (s)	S	R	R (s)

(s) : image de synergie



Figure 26. Résultats d'antibiogramme des transconjugants

1.8. Résultats de PCR

La recherche des gènes de résistance a été réalisée par PCR après extraction de l'ADN en ajoutant 200µl d'eau ultra pure. La PCR pour les gènes, TEM et SHV a été réalisé sur les souches productrice de β-lactamase à spectre étendu (BLSE).

La liste des souches testées est la suivante:

- (1) *Klebsiella pneumoniae* (N1P16)
- (2) *Klebsiella pneumoniae* (N1P19)
- (3) *E.coli* (N1P2)

- (4) *E. coli* (N1P1)
- (5) *E. coli* (N1P6)
- (6) *Enterobacter cloacae* (N1P10)
- (7) *Enterobacter cloacae* (N1P9)
- (8) *Serratia malifaciens* (N1p23)
- (9) *Citrobacterbraakii* (N1P24)

Les résultats de PCR pour les 9 souches testées ont montré que 8 souches sur 9 contenaient le gène TEM (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) et 3 souches sur 9 contenaient le gène SHV(1, 2, 6) (figure 27).

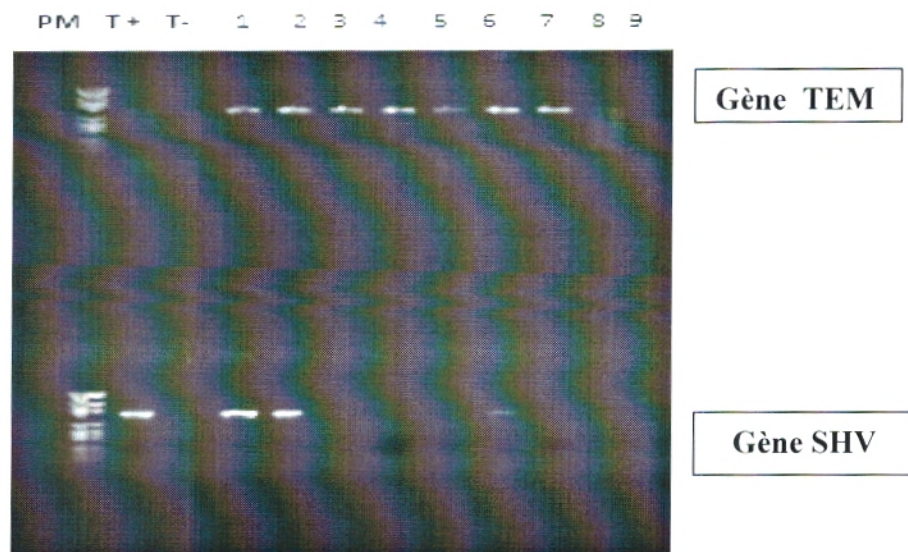


Figure 27. Résultats de PCR pour les gènes TEM et SHV

2. Discussion

Cette étude a été effectuée sur une collection de 36 souches d'entérobactéries, isolées au niveau du service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen. Le profil bactériologique des isolats est marqué par une prédominance des entérobactéries avec un pourcentage de 67.92% par rapport aux isolats non fermentants avec un pourcentage de 22.64%.

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés à des prélèvements à partir de l'environnement et des patients afin d'évaluer le profil de résistance des entérobactéries incriminées dans les infections nosocomiales.

Selon la littérature, ce risque infectieux dépend du microorganisme et de sa survie sur une surface inerte (**Meunier et al., 2005**). L'étude menée par **Meunier** montre que les entérobactéries fréquemment responsables d'infections nosocomiales sont : *E.coli*, *E. cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter spp*, *Proteus mirabilis*. Les entérobactéries environnementales rarement isolées en clinique humaine sont *E. sakasakii*, *Pantoea spp*, *Leclercia adecarboxylata*. Ce travail concorde parfaitement avec nos résultats, où nous remarquons une prédominance des souches de *Klebsiella pneumoniae* avec une prévalence de 19.44%, suivie d'*E.coli* avec une prévalence de 16.66% et d'*Enterobacter cloacae* avec une prévalence de 16.66%. Les souches étant réparties différemment selon le type et le site du prélèvement.

La surveillance de la sensibilité aux antibiotiques est une étape essentielle, elle oriente le choix des traitements empiriques et permet de réduire la pression de sélection exercée par les antibiotiques (**Hamze et Hard., 1999**). En effet, nos résultats montrent un taux de résistance considérable à la majorité des antibiotiques testés. Pour ces bactéries, le choix thérapeutique est compliqué par l'association fréquente d'une résistance naturelle et acquise et de plusieurs mécanismes de résistance. Quelques β -lactamines, les quinolones, et les aminosides constituent, en l'absence de nouvelles classes d'antibiotiques, les piliers de l'arsenal thérapeutique vis-à-vis de ces espèces (**Maurin et al., 1995**). Notons également que le taux de résistance vis-à-vis de l'amoxicilline (100%) et de l'amoxicilline + acide clavulanique (83.33%) dans notre étude était très élevé comparé à celui retrouvé à Sidi Bel Abbas avec 86.4% et 76.4% respectivement (**Souna, 2010**). Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) occupent une place importante dans les infections nosocomiales. Ces bactéries deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques et commencent à franchir les limites de l'hôpital pour émerger dans la

communauté. La dissémination de ces bactéries présente une menace grave qui met en cause la validité de l'arsenal antibiotique actuellement disponible, d'autant plus qu'aucune classe nouvelle d'antibiotique n'est attendue dans les prochaines années (**Mkaouar et al., 2008**).

Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) (**Belmonte et al., 2010**). La fréquence des souches productrices de β -lactamase à spectre étendu dans notre étude était de 36.11%, la valeur obtenue étant inférieure à celle de l'étude rétrospective menée par **Ayad** à l'hôpital de Tlemcen en 2010 dont la fréquence était de 67%, et à celle rapportée en France en 2010 dont la fréquence était de 44% (**Bourigault et al., 2012**). Par contre, notre fréquence était supérieure à celle de l'étude menée en Tunisie (30.8%) (**Messai et al., 2007**), et se rapprochait bien avec celle rapportée à Tlemcen (36.66%) (**Baba Ahmed et al., 2012a**).

Cependant, nous notons que le nombre de souches productrices de β -lactamase à spectre étendu est plus élevé chez *Enterobacter cloacae* (83.33%), cette prévalence étant supérieure à celle retrouvée dans un travail réalisé en Tunisie, qui a montré à travers une étude rapportée par **Lakhal et al**, que le pourcentage des souches d'*Enterobacter cloacae* productrices de BLSE est resté stable durant la période allant de 1997 à 2007 (14%) avec une augmentation brusque en 2008 et 2009 (28,9% et 28,6%). La prévalence étant supérieure également à un travail réalisé en France, qui a montré qu'*Enterobacter cloacae* se situe en première position et représente 39% des BLSE isolées en 2010 contre 21% en 1997/98 (**Belmonte et al., 2010**).

La prévalence de production de BLSE chez *Klebsiella pneumoniae* était de 57.14%, ce taux est inférieur à celui rapporté à Sidi Bel Abbes en 2010 par Souna (80%), et supérieur à celui rapporté en Algérie par **Messai et al, (2008)** (19.9%).

Pour ce qui est de l'espèce *E. coli*, la prévalence de production de BLSE était de 50%, étant supérieure par rapport à la fréquence rapportée par Souna en 2010 qui était de 15.4% et inférieure à la fréquence rapportée par Bourigault et al en 2012 qui était de 74%.

Le taux de production des céphalosporinases était de 16.66%, dont 19.44% était associé à une BLSE et 2.77% associé à une pénicillinase. Le phénotype sauvage a concerné 22.22% des isolats, suivie d'une fréquence faible de 2.77% pour la production de céphalosporinases plasmidiques associées à une BLSE.

L'acquisition de la résistance aux antibiotiques par les souches N1P2, N1P3, N1P21, après conjugaison, conforte l'hypothèse de dissémination du matériel génétique codant pour le phénotype BLSE. L'acquisition combinée de ce phénotype a été décrite par plusieurs auteurs qui ont confirmé par PCR le transfert du phénotype BLSE chez les souches testées (**Touati et**

al., 2006). La conjugaison a été négative pour 10 souches. L'absence du transfert chez les souches est du probablement du au fait que la résistance aux β -lactamines soit portée par un plasmide non conjugatif (**Iabadene et al., 2006**).

Avant 2002, les BLSE de types TEM et SHV étaient majoritaires. Elles étaient isolées en milieu hospitalier. Aujourd'hui CTX-M est la BLSE la plus souvent isolée dans le monde, notamment CTX-M-15, or les BLSE de type TEM ou SHV étaient essentiellement isolées chez *K. pneumoniae* et CTX-M-15 chez *E. coli*. Ainsi, alors que TEM et SHV restaient essentiellement cantonnées à l'hôpital, CTX-M diffusait beaucoup plus largement dans la communauté (**Vodovard et al., 2012**). La recherche des gènes de résistances à travers l'analyse moléculaire des 9 souches testées, nous a indiqué que 8 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E.coli*, 2 *Enterobacter cloacea*, 1 *Serratia malifaciens*) produisent de BLSE de type TEM, et que 3 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacea*) produisent de BLSE de type SHV.

Il est à noter que le taux d'entérobactéries productrices de BLSE ne cesse d'augmenter partout à travers le monde, non seulement dans les infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires. De plus, de nouvelles résistances émergentes, telles que la résistance aux carbapénèmes commencent à propager ces dernières années (**Anastay et al., 2013**). Ces résistances étant limitées à l'usage hospitalier, due à la prescription des carbapénèmes dans le cadre du traitement des infections nosocomiales. L'excellente activité antibactérienne des carbapénèmes est liée en particulier à la rapidité de leur pénétration transmembranaire à travers la paroi externe des bacilles Gram négatif et à leur stabilité vis-à-vis de la plupart des β -lactamases naturelles ou acquises (**Nordmann et Carrer., 2010**), ce qui est le cas dans notre étude concernant l'imipénème qui garde une bonne activité sur la totalité de nos souches avec un taux qui atteint les 100% de sensibilité, suivi par une fréquence de 63.89% pour l'ertapénème.

Chez les entérobactéries, la résistance aux quinolones résulte principalement d'une accumulation de mutations au niveau des gènes codant les cibles de ces molécules, l'ADN gyrase et la topoisomerase IV, les autres mécanismes chromosomiques, comme l'hyper expression des pompes d'efflux ou l'imperméabilité entraînent une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique peuvent également être impliqués (**Merensa et Servonneta., 2010**). En pratique, il est conseillé de tester au moins trois quinolones : l'acide nalidixique, la norfloxacin et la ciprofloxacine (**Cattoir, 2012**) qui ont présenté dans notre étude un taux de sensibilité de 52.78%, 50% et 58.34% respectivement. Ce taux étant

nettement inférieur comparé à celui retrouvé dans une étude menée en France (**Trystram et al., 2002**) avec un taux qui varie de 89 à 96-89%.

En pratique, les possibilités thérapeutiques se limitent souvent à certains aminosides, voire à certaines quinolones (**Nordmann et Carrer., 2010**). En effet, les niveaux de résistance dans notre étude étaient plus importants pour la gentamicine (44.44%) que pour l'amikacine, qui reste la molécule la plus efficace avec un taux de 83.34% des souches sensibles, cette prévalence étant inférieure de celle rencontrée par Souna en 2010 (96.4%).

En ce qui concerne la colistine, elle est considérée comme étant la molécule la plus active, avec un taux de sensibilité de 94.45%, en tenant compte que cette molécule est totalement inactive sur les espèces de *Proteus* qui est naturellement résistante.

La prévention des infections nosocomiales surtout les infections EBLSE et de leur dissémination est un problème de santé publique. L'approche doit être pluridimensionnelle et intégrer deux composantes pour une situation devenue endémique : l'amélioration des précautions dites standard et la rationalisation de la consommation des antibiotiques et de leur prescription. Les mesures standard comprennent le lavage des mains par une solution hydro-alcoolique, le port de gants en cas de contact avec un liquide biologique et le port d'une surblouse en cas de soins contaminants quel que soit le patient (**Vodovard et al., 2012**).

Si la maîtrise de l'environnement est indispensable dans un établissement de santé pour protéger à la fois les patients et les personnels, il n'en demeure pas moins vrai que le rôle de l'environnement dans la survenue d'infection nosocomiale est difficile à évaluer (**Barbut et Neyme., 2006**). L'état actuel de la résistance des bactéries aux antibiotiques est certainement indispensable pour informer les thérapeutes des risques d'échecs potentiels qu'entraîne l'utilisation de certains antibiotiques sur les infections déterminées par certaines espèces bactériennes. Ces études sont nécessaires pour la mise à jour, de façon objective, des spectres d'activités antibactériennes des différents antibiotiques. La variabilité de fréquence et de la diffusion des différents mécanismes de résistances, doit faire insister sur la nécessité des systèmes de surveillances à l'échelle régionale, locale, hospitalier, voire pour chacun des services au sein d'un même hôpital (**Thabaut et al., 1995**). Le signalement des patients porteurs au moment de leur transfert et le dépistage à l'admission des patients à risque au moment de leur admission dans certaines unités de soins permettrait de diminuer ces risques épidémiques. Enfin, une politique d'utilisation raisonnée des antibiotiques permettrait de compléter ces mesures (**Eveillard et al., 2001**).

CONCLUSION

Les entérobactéries représentent l'une des principales familles de bacilles à Gram négatif responsables d'infections humains graves.

L'analyse bactériologique des divers prélèvements effectués au niveau du service de neurochirurgie de Tlemcen a permis d'isoler 67.92% d'entérobactéries. La surveillance de la sensibilité aux antibiotiques a montré un taux considérable de résistance par rapport à la majorité des antibiotiques, avec une prédominance de souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération par l'acquisition de β -lactamases à spectre élargi.

La dissémination de ces bactéries multirésistantes, difficiles à maîtriser, devraient inciter l'hôpital à envisager de nouvelles approches pour le contrôle des infections nosocomiales en mettant en place de nouvelles stratégies de l'antibiothérapie.

Enfin, des mesures préventives apparaissent comme primordiales pour limiter ce risque majeur de santé publique, il faut :

- Respecter les règles d'hygiène.
- Suivre un programme contre la diffusion des bactéries multirésistantes à l'hôpital.
- Faire un plan pour la maîtrise de la consommation des antibiotiques.
- Détecter précocement les maladies infectieuses et les isoler pour s'opposer à la transmission des souches à l'intérieur d'un service ou d'un hôpital.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Albert Gallusser Lausanne. (2001).** Carbapénèmes et entérobactéries. Microbiol. Infect. Vol. 7.
2. **Anastay M, Lagier E, Blanc V, Chardon H. (2013).** Epidémiologie des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries dans un hôpital du Sud de la France, 1999-2007. Pathologie Biologie 61 38–43.
3. **Ansart Séverine, Xavier Nicolas, Yvon L. Pennec, Michel Garré. (2005).** Quand utiliser une fluoroquinolone systémique ? Revue 29609 Brest Cedex
4. **Ayad Amel. (2010).** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au C.H.U de Tlemcen. Mémoire de magister.
5. **Baba Ahmed Z, Ayad A, Mesli E, Messai Y, Bakour R and Drissi M. (2012a).** CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacteriaceae* in the intensive care unit Tlemcen Hospital, Algeria. EMHJ • Vol. 18 No. 4.
6. **Baba Ahmed-Kazi Tani Zaket, Decre Dominique, Genel Nathalie, Boucherit-Otmani Zahia, Arlet Guillaume, and Drissi Mourad. (2012b).** Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial Multidrug-Resistant Strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010). MDR-0161-ver9-Tani_1P.3d.
7. **Barbut Frédéric, Neyme Denis. (2006).** Les difficultés d'interprétation des contrôles microbiologiques environnementaux. Revue francophone, N°382.
8. **Belmonte O, Drouet D, Alba J, Moiton P, Kuli B, Lugagne-Delpon N, Mourlan C, Jaffar M Bandjee C. (2010).** Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la région : émergence des β -lactamases à spectre élargi. Pathologie Biologie 58 ;18–24.
9. **Bourigault C, Corvec S, Bemmer P, Juvin M-E, Guillouzouic A, Crémet L, Reynaud A, Leprince C, Lepelletier D. (2012).** Impact de l'augmentation de l'incidence des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) sur l'application des précautions complémentaires dans un centre hospitalier universitaire. PATBIO-3042.
10. **Bryskier A. (1999).** Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques. Ed Ellipses. P: 747.
11. **CA SFM. (2010).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.
12. **Carle Sylvie. (2010).** La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important! Pharmactuel Vol. 42.

13. **Cattoir Vincent. (2012).** Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. Rev Elsevier Masson SAS.
14. **Cavallo J.D, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E. (2004).**β- lactamines. EMC- Maladies Infectieuses 129–202.
15. **Changeur Nicolas, Cherruault Marlène. (2009).** Pharmacologie des aminosides (aminoglycosides). P: 3.
16. **Courvalin P, Drugeon H, Flandrois J.P, Goldstein F. (1991).** Bactericidie : aspect théoriques et thérapeutiques ; édition maloine. Pages 13, 14, 23, 26.
17. **Eveillard M, Biendo M, Canarelli B, Daoudi F, Laurans G, Rousseau F, Thomas D. (2001).** Diffusion des entérobactéries productrices de β-lactamase à spectre élargi et évolution de leur incidence sur une période de 16 mois dans un centre hospitalier universitaire. Pathol Biol; 49 : 515-21.
18. **Hamze M, Hard D. (1999).** Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques situations en 1997 au Nord du Liban. Med Mal infect 1999 ; 29 : 527-31.
19. **Isabelle Borde. (2006).** Biologie et Multimédia - Université Pierre et Marie Curie - UFR de Biologie.
20. **Jacob Géraldine. (2003).** Implication des gènes de la régulation des céphalosporinases chromosomique d'*Enterobacter cloacae* dans le phénotype hyperproducteur de céphalosporinase. Thèse de doctorat en médecine. P.21.
21. **Jean-Noël Joffin, Guy Leyral. (2001).** Techniques de microbiologie. 3ème édition.
22. **Joly-Guillou M.L (2004).** Rôle du laboratoire de microbiologie dans la stratégie thérapeutique probabiliste. 622–625.
23. **Lakhal E, Hammami S, Kammoun A, Ghozzi R, Saidani.M, Miled D, Boutiba-Ben Boubaker I, Slim A.(2010).** Suivi des *Enterobacter cloacae* productrices de β-lactamases à spectre étendu à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis (2000-2009). Revue Tunisienne d'Infectiologie, Supp- Vol.4 - (Suppl. N°1).
24. **Lambert T. (1997).** Etat actuel de la sensibilité des bactéries aux aminosides. Rev : 6 (9s-6s).
25. **Larouche Geneviève. (2001).** Les quinolones : des années soixante à aujourd'hui. Pharmacothérapie théorique. Pharmacothérapie théorique. Pharmactuel.34(2) :40.
26. **Le minor Léon, Véron Michel. (1989).** Bactériologie médicale ; 2^{ème} édition.
27. **Makan Diouara. (2007).** Sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques dans le district de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie, faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie.

28. **Marchal N, Bourdon J.L, Richard D. (1987).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.
29. **Marty N. (2000).** Mode d'action des principaux antibiotiques utilisés chez le brûlé. Brulures. Vol 1. Ed. Carr. Méd.
30. **Matthew E, Falagasa A, Petros I. Rafailidis A, Dimitrios K. Matthaïoua. (2010).** Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. 1368-7646.
31. **Maurin M, Musso D, Charrel R, Perez R, Nguyen A, Damon H, Micco P. (1995).** Résistance aux antibiotiques des bactéries hospitalières (bacilles à Gram négatif aérobies) situation 1992 à Marseille. *Med Mal infect* ; 25:508-14.
32. **Mayoral G, Ferreyra M, Eden A, Gueudet P, Miquel C, Lecaillon E. (2010)** évolution de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération de 2000 à 2008 au centre hospitalier de Perpignan. *Pathologie Biologie* 58 : 7–10.
33. **Mérens. A. (2007).** Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique et catégorisation clinique. *Pathologie Biologie* 56 ; 300–304.
34. **Merensa Audrey, Servonneta Aurélie. (2010).** Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones.
35. **Messai L, Achour W, Ben Hassen B. (2007).** Profil épidémiologique des entérobactéries isolées chez des patients neutropéniques. *Pathologie Biologie* 55, 230–234.
36. **Messai Y, Iabadene H, Benhassine T, Alouache S, Tazir M, Gautier V, Arlet G, Bakour R. (2008).** Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie* 56, 319–325.
37. **Meunier O, Hernandez C, Piroird. M, Heilig R, Steinbach D, Freyd A. (2005).** Prélèvements bactériologiques des surfaces importance de l'étape d'enrichissement et du choix des milieux de culture. *Ann Biol Clin* ; 63 (5) : 481-6.
38. **Michael A. (2010).** Quinolones. *Nature Reviews Microbiology* 8, 423-435.
39. **Mirabaurd Madeleine Irène. (2003).** Entérobactéries et β - lactamase à spectre élargi en pédiatrie. Thèse de doctorat en médecine, université de Genève.
40. **Mkaouar D, Mahjoubi F, Mezghani S, Znazen A, Ktari S, 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.

41. **Nauciel C, Vildé J.L. (2005).** Bactériologie médicale 2^{ème} édition. Page 45.
42. **Nordmann P, Carrer A. (2010).** Les carbapénèmes des entérobactéries. 17 : S-154 ; S-162.
43. **Oumou Ndiay Agja. (2005).** Les entérobactéries sécrétrices de β -lactameses à spectre élargi. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop Dakar.
44. **Philippon A, Arlet B. (2012).** Entérobactéries et β -lactamines : phénotypes de résistance naturelle. Pathologie Biologie 60 :112–126.
45. **Pierre-Etienne Leblanc, Gaëlle Cheisson, Laurent Martin, Bernard Vigué. (2010).** Infections postopératoire en neurochirurgie. Département d'Anesthésie Réanimation, CHU de Bicêtre, 78 rue du Général Leclerc, 94275 Le Kremlin Bicêtre Cedex.
46. **Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood, Woolverton. (2003).** MICROBIOLOGIE; De Boeck », 3ème édition,
47. **Prouzergue Blancher Julie. (2011).** Analyse de la prescription antibiotique des médecins généralistes en Haute-Vienne dans le traitement des infections urinaire de l'adulte. Thèse de doctorat en médecin, Université de Limoges.
48. **Robin Frédéric, Gibolda Lucie, Bonnet Richard. (2012).** Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? Elsevier Masson SAS.
49. **Roy Davide. (2000).** Identification et caractérisation de la région variable des intégrons de classe 1 identifiés chez différents isolats cliniques à Gram négatif et caractérisation du mécanisme de résistance aux β -lactamines chez un isolat de Salmonelle isolé au Québec. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval pour l'obtention du grade de maître des sciences (MSc.)
50. **Sekheri-Arafa Nedjoua. (2011).** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du C.H.U Benbadis de Constantine. Thèse de Doctorat en Sciences, Université Mentouri de Constantine.
51. **Souna Djahida. (2010).** Elude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au C.H.U de Sidi Bel Abbes. Mémoire de magister.
52. **Thabaut A, Avril J.L, Bebear C, Bergogne-Berezin N, Boucot L, Chiche D, Gluzel R, Jarlier V, Grosset J, Lemeland J.F, Meyran M, Monteil H, Morel C, Nicolas M.H, Philippon A, Reverdy M.E, Sirot J. (1995).** Evolution de la sensibilité

Annexe 1 : Tableau de lecture des résultats de la galerie API 20 E

tests	composants actifs	reactions/enzymes	résultats	
			négatif	positif
ONPG	2-nitrophényl- β -galactoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge
LDC	L-lysine	Lysine	Jaune	Rouge-orangé
ODC	L-omithine	Omithine décarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
CIT	Trisodium citrate	Utilisation citrate	Vert pale	Bleu-vert
H2S	Sodium thiosulfate	Production de H2S	Incolore-grisater	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge-orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	Marron-rougatre
IND	L-tryptophane	Production d'indol	Incolore-vert pale-jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoine	Incolore-rose pale	Rose-rouge
GEL	Gélatine(origine bovine)	Gélatinase	Non diffusion	Noir
GLU	D-glucose	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune/jaune-gris
MAN	D-mannitol	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygladine	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

Annexe 3 : valeurs critiques des antibiotiques utilisés pour les entérobactéries (CA-SFM, 2010)

Antibiotiques		Sigle	Charge du disque μg	Concentration critique en (mg/l)		Diamètre critique (mm)	
				S	R	S	R
β-lactamines	Amoxicilline	AMX	25 μg	<4	>8	>21	<16
	Amoxicilline+ Acide clavulanique	AMC	20/10 μg	<4/2	>8/2	>21	<16
	Imipénème	IMP	10 μg	<2	>8	>24	<17
	Ertapénème	ERTA	10 μg	<0,5	>1	>28	<26
	Aztréonam	ATM	30 μg	<1	>8	>27	<21
	Céfepime	FEP	30 μg	<1	>8	>24	<17
	Céfoxitime	FOX	30 μg	<8	>32	>22	<15
	Céfotaxime	CTX	30 μg	<1	>2	>26	<23
	Céftazidime	CAZ	30 μg	<1	>8	>26	<19
Aminoside	Gentamicine	GN	15 μg	<2	>4	>18	<16
	Amikacine	AN	30 μg	<8	>16	>17	<15
Quinolone	Acide Nalidique	NA	30 μg	<8	>16	>20	<15
	Norfloxacin	NOR	5 μg	<0,5	>1	>25	<22
	Ciprofloxacine	CIP	5 μg	<0,5	>1	>25	<22
Polymyxine	Colistine	CS	50 μg	<2	>2	>15	<15

Annexe 4 : préparation des solutions d'antibiotiques

Solution initiale ($\mu\text{g/ml}$)	Solution mère (ml)	Eau distillée (ml)	Concentration obtenue ($\mu\text{g/ml}$)	Concentration finale dans un milieu ($\mu\text{g/ml}$)
5120	2	2	2560	256
5120	1	3	1280	128
5120	0.5	3.5	640	64
5120	0.5	7.5	320	32
320	2	2	160	16
320	1	3	80	8
320	1	3.5	40	4
320	0.5	7.5	20	2
20	2	2	10	1
20	1	3	5	0.5
20	0.5	3.5	2.5	0.25

Annexe 05 : Phénotypes de résistance aux β -lactamines mécanismes de résistance

	Pénicillinase	céphalosporinase	BLSE	carbapénémase
Amoxicilline	R	R	R	S
Ceftazidime	S	R	R	S
Céfotaxime	S	R	R	S
Céfoxitine	R	S	R	S
Ertapénème	S	S	S	R
Imipénème	S	S	S	R

Annexe 06 : Composition des milieux de culture

1- Milieu Mac Conkey

- Peptone 20g/l
- Lactose 10 g/l
- Sels biliaries 5g/l
- Chlorure de sodium 5g/l
- Rouge neutre 0.075g/l
- Agar agar 12g/l
- pH 7.4 ± 0.2 (37°C)

2- Gélose nutritive

- Macération de viande (meat extract) 1g/l
- Yeast extract 2 g/l
- Peptone 5g/l
- Chlorure de sodium 5g/l
- Agar agar 15g/l
- pH 7.4 ± 0.2 (37°C)

3- Milieu Mueller Hinton

- Infusion de viande de boeuf 2g/l
- Hydolysat de caseine 17.5 g/l
- Amidon 1.5 g/l
- Agar agar 17 g/l
- pH 7.3 ± 0.2 (25°C)

4- Gélose TSI

- Peptone 15g/l
- Extrait de viande 3g/l
- Peptone pepsique de viande 5g/l
- Glucose 1g/l
- Lactose 10g/l
- Saccharose 10g/l
- Rouge de phenol 0.024g/l

- Chlorure de sodium 5g/l
- Sulfate de fer II 0.2g/l
- Thiosulfate de sodium 0.3 g/l
- Agar 11 g/l
- pH 7.5

5- Bouillon nutritive (BHIB)

- Calf brains 12.5 g/l
- Beef heart 5 g/l
- Peptone 10 g/l
- Chlorure de sodium 5 g/l
- D- Glucose 2g/l
- Disodium phosphate hydrogène 2.5g/l

N1P23	<i>Serratia malifaciens</i>	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	R	R	S	BLSE+CASE
N1P24	<i>Citrobacter braakii</i>	R	R (s)	R (s)	I	I	S (s)	S	S	S	S	S	S	I	S	BLSE
N1P25	<i>Citrobacter braakii</i>	R	R (s)	R (s)	I	I	S (s)	S	S	S	S	S	S	I	S	BLSE
N1P26	<i>Pantoea spp 3</i>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	SAUVAGE
N1P27	<i>Pantoea spp 3</i>	R	S (s)	R (s)	S	R	R (s)	S	S	S	S	R	S	S	S	BLSE
N1P28	<i>Pantoea spp 3</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	SAUVAGE
N1P29	<i>pantoea spp 2</i>	R	R	I	R	I	I	S	I	I	S	S	S	S	R	CASE
N1P30	<i>Pantoea spp 2</i>	R	R (s)	R (s)	R	S	R (s)	S	S	R	S	I	R	R	S	BLSE
N1P31	<i>Pantoea spp 4</i>	R	R	I	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	CASE
N1P32	<i>Rahnella aquatilis</i>	R	R	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R	R	S	CASE
N1P32	<i>Rahnella aquatilis</i>	R	R (s)	R (s)	R	S	R (s)	S	S	R	S	I	R	R	S	SAUVAGE
N1P34	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	R	R	R	NT	R	S	S	S	S	S	R	R	S	BLSE+CASE
N1P35	<i>Proteus mirabilis</i>	R	R	R	R	NT	S	S	R	S	S	S	S	S	R	CASE
N1P36	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	R	R	R	I	S	I	S	S	R	S	S	S	S	S	BLSE

(s) : Image de synergie

R : Résistant

S : Sensible

NT : Non testé

Résumé

Le présent travail porte sur la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen. L'étude consiste à identifier les phénotypes de résistance, à réaliser des expériences de conjugaison et une analyse moléculaire par la méthode de PCR. Au total, 36 souches d'entérobactéries ont été étudiées dont 8 ont été isolées à partir des patients et 28 souches à partir de l'environnement. L'antibiosurveillance a montré un taux considérable de résistance aux antibiotiques, avec une prédominance de la résistance vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération par l'acquisition de β -lactamases. Parmi celles-ci, 13 ont produit des β -lactamases à spectre élargi, dont 3 ont permis le transfert de résistance par conjugaison et 8 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) possèdent des BLSE de type TEM, et 3 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) possèdent des BLSE de type SHV.

Mots clés : Entérobactéries, Sensibilité, Antibiotiques, BLSE, Epidémie.

Abstract

This work concerns the sensitivity to antibiotics of the enterobacterias isolated in the service from neurosurgery in the C.H.U of Tlemcen. The study consists in identifying the phenotypes of resistance, carrying out experiments of conjugation and a molecular analysis by the method of PCR. On the whole, 36 stocks of enterobacterias were studied from which 8 insulated starting from the patients and 28 stocks were starting from the environment. The antibiosurveillance showed a considerable rate of resistance to antibiotics, with a prevalence of resistance with respect to the cephalosporines of third generation by the acquisition of β -lactamases. Among those, 13 produced β -lactamases with widened spectrum, of which 3 allowed the transfer of resistance per conjugation and 8 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) have BLSE of the type TEM, and 3 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) have BLSE of the type SHV.

Key words: Enterobacterias, Sensitivity, Antibiotics, BLSE, Epidemic.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار حساسية البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية المعزولة في قسم الجراحة المخ و الأعصاب في المستشفى الجامعي بتلمسان. من خلال هذه الدراسة تم التعرف على الظواهر المقاومة, تحقيق تجارب اقتران و التحليل الجزيئي باستخدام طريقة PCR .

تمت الدراسة على 36 مجموعة من سلالات البكتيريا المعوية, تم عزل 8 من المرضى و 28 سلالات من المحيط. أظهرت اختبارات الحساسية مستويات كبيرة من المقاومة للمضادات الحيوية , مع غلبة المقاومة بالنسبة لسيفالوسبورينات من الجيل الثالث حيث قامت 13 سلالة بإنتاج البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف , من بينهم 3 أسفرت عن نقل المقاومة عن طريق الاقتران و 8 سلالات (2 الكلبسيلا الرئوية , 3 اشريكية القولونية , 2 امعانية المدرقية , السراتية ماليفاسينس) تحتوي علي نوع TEM و 3 سلالات (2 الكلبسيلا الرئوية, 1 امعانية المدرقية) تحتوي علي نوع SHV.

كلمات البحث : الحساسية , المضادات الحيوية , البكتيريا المعوية , البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف.

Résumé

Le présent travail porte sur la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen. L'étude consiste à identifier les phénotypes de résistance, à réaliser des expériences de conjugaison et une analyse moléculaire par la méthode de PCR. Au total, 36 souches d'entérobactéries ont été étudiées dont 8 ont été isolées à partir des patients et 28 souches à partir de l'environnement. L'antibiosurveillance a montré un taux considérable de résistance aux antibiotiques, avec une prédominance de la résistance vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération par l'acquisition de β -lactamases. Parmi celles-ci, 13 ont produit des β -lactamases à spectre élargi, dont 3 ont permis le transfert de résistance par conjugaison et 8 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) possèdent des BLSE de type TEM, et 3 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) possèdent des BLSE de type SHV.

Mots clés : Entérobactéries, Sensibilité, Antibiotiques, BLSE, Epidémie.

Abstract

This work concerns the sensitivity to antibiotics of the enterobacterias isolated in the service from neurosurgery in the C.H.U of Tlemcen. The study consists in identifying the phenotypes of resistance, carrying out experiments of conjugation and a molecular analysis by the method of PCR. On the whole, 36 stocks of enterobacterias were studied from which 8 insulated starting from the patients and 28 stocks were starting from the environment. The antibiosurveillance showed a considerable rate of resistance to antibiotics, with a prevalence of resistance with respect to the cephalosporines of third generation by the acquisition of β -lactamases. Among those, 13 produced β -lactamases with widened spectrum, of which 3 allowed the transfer of resistance per conjugation and 8 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) have BLSE of the type TEM, and 3 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) have BLSE of the type SHV.

Key words: Enterobacterias, Sensitivity, Antibiotics, BLSE, Epidemic.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار حساسية البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية المعزولة في قسم الجراحة المخ و الأعصاب في المستشفى الجامعي بتلمسان. من خلال هذه الدراسة تم التعرف على الظواهر المقاومة, تحقيق تجارب اقتران و التحليل الجزيئي باستخدام طريقة PCR .

تمت الدراسة على 36 مجموعة من سلالات البكتيريا المعوية, تم عزل 8 من المرضى و 28 سلالات من المحيط. أظهرت اختبارات الحساسية مستويات كبيرة من المقاومة للمضادات الحيوية , مع غلبة المقاومة بالنسبة لسيفالوسبورينات من الجيل الثالث حيث قامت 13 سلالة بإنتاج البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف , من بينهم 3 أسفرت عن نقل المقاومة عن طريق الاقتران و 8 سلالات (2 الكلبسيلا الرئوية , 3 اشريكية القولونية , 2 امعانية المدرقية , السراتية ماليفاسينس) تحتوي علي نوع TEM و 3 سلالات (2 الكلبسيلا الرئوية , 1 امعانية المدرقية) تحتوي علي نوع SHV.

كلمات البحث : الحساسية , المضادات الحيوية , البكتيريا المعوية , البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف .

Résumé

Le présent travail porte sur la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen. L'étude consiste à identifier les phénotypes de résistance, à réaliser des expériences de conjugaison et une analyse moléculaire par la méthode de PCR. Au total, 36 souches d'entérobactéries ont été étudiées dont 8 ont été isolées à partir des patients et 28 souches à partir de l'environnement. L'antibiosurveillance a montré un taux considérable de résistance aux antibiotiques, avec une prédominance de la résistance vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération par l'acquisition de β -lactamases. Parmi celles-ci, 13 ont produit des β -lactamases à spectre élargi, dont 3 ont permis le transfert de résistance par conjugaison et 8 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) possèdent des BLSE de type TEM, et 3 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) possèdent des BLSE de type SHV.

Mots clés : Entérobactéries, Sensibilité, Antibiotiques, BLSE, Epidémie.

Abstract

This work concerns the sensitivity to antibiotics of the enterobacteries isolated in the service from neurosurgery in the C.H.U of Tlemcen. The study consists in identifying the phenotypes of resistance, carrying out experiments of conjugation and a molecular analysis by the method of PCR. On the whole, 36 stocks of enterobacteries were studied from which 8 insulated starting from the patients and 28 stocks were starting from the environment. The antibiosurveillance showed a considerable rate of resistance to antibiotics, with a prevalence of resistance with respect to the cephalosporines of third generation by the acquisition of β -lactamases. Among those, 13 produced β -lactamases with widened spectrum, of which 3 allowed the transfer of resistance per conjugation and 8 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) have BLSE of the type TEM, and 3 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) have BLSE of the type SHV.

Key words: Enterobacteries, Sensitivity, Antibiotics, BLSE, Epidemic.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار حساسية البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية المعزولة في قسم الجراحة المخ و الأعصاب في المستشفى الجامعي بتلمسان. من خلال هذه الدراسة تم التعرف على الظواهر المقاومة, تحقيق تجارب اقتران و التحليل الجزيئي باستخدام طريقة PCR .

تمت الدراسة على 36 مجموعة من سلالات البكتيريا المعوية, تم عزل 8 من المرضى و 28 سلالات من المحيط. أظهرت اختبارات الحساسية مستويات كبيرة من المقاومة للمضادات الحيوية , مع غلبة المقاومة بالنسبة لسيفالوسبورينات من الجيل الثالث حيث قامت 13 سلالة بإنتاج البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف , من بينهم 3 أسفرت عن نقل المقاومة عن طريق الاقتران و 8 سلالات (2 الكلبسيلا الرئوية , 3 اشريكية القولونية , 2 امعانية المدرقية , السراتية ماليفاسينس) تحتوي علي نوع TEM و 3 سلالات (2 الكلبسيلا الرئوية , 1 امعانية المدرقية) تحتوي علي نوع SHV.

كلمات البحث : الحساسية , المضادات الحيوية , البكتيريا المعوية , البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف .

Résumé

Le présent travail porte sur la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen. L'étude consiste à identifier les phénotypes de résistance, à réaliser des expériences de conjugaison et une analyse moléculaire par la méthode de PCR. Au total, 36 souches d'entérobactéries ont été étudiées dont 8 ont été isolées à partir des patients et 28 souches à partir de l'environnement. L'antibiosurveillance a montré un taux considérable de résistance aux antibiotiques, avec une prédominance de la résistance vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération par l'acquisition de β -lactamases. Parmi celles-ci, 13 ont produit des β -lactamases à spectre élargi, dont 3 ont permis le transfert de résistance par conjugaison et 8 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) possèdent des BLSE de type TEM, et 3 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) possèdent des BLSE de type SHV.

Mots clés : Entérobactéries, Sensibilité, Antibiotiques, BLSE, Epidémie.

Abstract

This work concerns the sensitivity to antibiotics of the enterobacterias isolated in the service from neurosurgery in the C.H.U of Tlemcen. The study consists in identifying the phenotypes of resistance, carrying out experiments of conjugation and a molecular analysis by the method of PCR. On the whole, 36 stocks of enterobacterias were studied from which 8 insulated starting from the patients and 28 stocks were starting from the environment. The antibiosurveillance showed a considerable rate of resistance to antibiotics, with a prevalence of resistance with respect to the cephalosporines of third generation by the acquisition of β -lactamases. Among those, 13 produced β -lactamases with widened spectrum, of which 3 allowed the transfer of resistance per conjugation and 8 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) have BLSE of the type TEM, and 3 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) have BLSE of the type SHV.

Key words: Enterobacterias, Sensitivity, Antibiotics, BLSE, Epidemic.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار حساسية البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية المعزولة في قسم الجراحة المخ و الأعصاب في المستشفى الجامعي بتلمسان. من خلال هذه الدراسة تم التعرف على الظواهر المقاومة, تحقيق تجارب اقتران و التحليل الجزيئي باستخدام طريقة PCR .

تمت الدراسة على 36 مجموعة من سلالات البكتيريا المعوية, تم عزل 8 من المرضى و 28 سلالات من المحيط. أظهرت اختبارات الحساسية مستويات كبيرة من المقاومة للمضادات الحيوية , مع غلبة المقاومة بالنسبة لسيفالوسبورينات من الجيل الثالث حيث قامت 13 سلالة بإنتاج البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف , من بينهم 3 أسفرت عن نقل المقاومة عن طريق الاقتران و 8 سلالات (2 الكلبسيلة الرئوية , 3 اشريكية القولونية , 2 امعانية المدرقية , السراتية ماليفاسينس) تحتوي علي نوع TEM و 3 سلالات (2 الكلبسيلة الرئوية , 1 امعانية المدرقية) تحتوي علي نوع SHV.

كلمات البحث : الحساسية , المضادات الحيوية , البكتيريا المعوية , البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف .

Résumé

Le présent travail porte sur la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U de Tlemcen. L'étude consiste à identifier les phénotypes de résistance, à réaliser des expériences de conjugaison et une analyse moléculaire par la méthode de PCR. Au total, 36 souches d'entérobactéries ont été étudiées dont 8 ont été isolées à partir des patients et 28 souches à partir de l'environnement. L'antibiosurveillance a montré un taux considérable de résistance aux antibiotiques, avec une prédominance de la résistance vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération par l'acquisition de β -lactamases. Parmi celles-ci, 13 ont produit des β -lactamases à spectre élargi, dont 3 ont permis le transfert de résistance par conjugaison et 8 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) possèdent des BLSE de type TEM, et 3 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) possèdent des BLSE de type SHV.

Mots clés : Entérobactéries, Sensibilité, Antibiotiques, BLSE, Epidémie.

Abstract

This work concerns the sensitivity to antibiotics of the enterobacteries isolated in the service from neurosurgery in the C.H.U of Tlemcen. The study consists in identifying the phenotypes of resistance, carrying out experiments of conjugation and a molecular analysis by the method of PCR. On the whole, 36 stocks of enterobacteries were studied from which 8 insulated starting from the patients and 28 stocks were starting from the environment. The antibiosurveillance showed a considerable rate of resistance to antibiotics, with a prevalence of resistance with respect to the cephalosporines of third generation by the acquisition of β -lactamases. Among those, 13 produced β -lactamases with widened spectrum, of which 3 allowed the transfer of resistance per conjugation and 8 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter cloacae*, 1 *Serratia malifaciens*) have BLSE of the type TEM, and 3 stocks (2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Enterobacter cloacae*) have BLSE of the type SHV.

Key words: Enterobacteries, Sensitivity, Antibiotics, BLSE, Epidemic.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار حساسية البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية المعزولة في قسم الجراحة المخ و الأعصاب في المستشفى الجامعي بتلمسان. من خلال هذه الدراسة تم التعرف على الظواهر المقاومة, تحقيق تجارب اقتران و التحليل الجزيئي باستخدام طريقة PCR .

تمت الدراسة على 36 مجموعة من سلالات البكتيريا المعوية, تم عزل 8 من المرضى و 28 سلالات من المحيط. أظهرت اختبارات الحساسية مستويات كبيرة من المقاومة للمضادات الحيوية , مع غلبة المقاومة بالنسبة لسيفالوسبورينات من الجيل الثالث حيث قامت 13 سلالة بإنتاج البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف , من بينهم 3 أسفرت عن نقل المقاومة عن طريق الاقتران و 8 سلالات (2 الكلبسيلا الرئوية , 3 اشريكية القولونية , 2 امعانية المدرقية , السراتية ماليفاسينس) تحتوي علي نوع TEM و 3 سلالات (2 الكلبسيلا الرئوية , 1 امعانية المدرقية) تحتوي علي نوع SHV.

كلمات البحث : الحساسية , المضادات الحيوية , البكتيريا المعوية , البيبتالاكتاملز الواسعة الطيف.