République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique

Université Yahia Farés de Médéa

Faculté des Sciences Département Biologie

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention le Diplôme de Master En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée.

Préparé et présenté par :

Melle. **MENACER** Chaimaa Melle. **FERGANI** Ikram

Melle **BENGHERBIA** Sara

THEME

Etude de la résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter sp* et *Enterobacter sp* au niveau de l'hôpital de Médéa.

Soutenu le 20/09/2020

Membres de jury :	Grade :	Etablissement :	
Mr.BOUCELKHA.A	MCB	Université de Médéa	Président
Mme.BELKACEM.I	MCB	Université de Médéa	Examinateur1
Mme.HOCEINI.A	MCB	Université de Médéa	Examinateur2
Mme.ZERGOUG.A	MCB	Université de Médéa	Encadreur

Année universitaire : 2019/2020

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions le grand ***Dieu*** *le tout puissant qui nous a donné la force, le courage, la santé et de nous avoir permis d'arrivera ce stade-là.*

A notre prophète ***MOHAMED QUE DIEU LUI SALUT ET BENIR.***

Le présent document couronne nos études universitaires très riches en enseignements et expériences tant sur le plan du savoir scientifique que de celui de la vie en collectivité.

Ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier en ces quelques lignes.

Nous tenons à remercier notre promotrice ***Mme ZERGOUGA*** *pour avoir accepté la charge de nous encadrer, pour ses conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire.*

Nous remercions très singulièrement ***Mr BELHADJ IBRAHIM*** *Professeur d'enseignement au paramédical, pour sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses qualités humaines nous ont profondément touchées.*

Nous remercions également tout le personnel administratif et médical de l'hôpital Mohamed Boudhiaf de Médea de nous avoir acceptée et facilitée le travail : les chefs services de médecine interne femme et homme Mme ***KHADAOUI ABD ELKADER*** *et Mr* ***CHAOUCHE****, Mr* ***IRKI MOHAMED*** *chef de service de néphrologie et dialyse, chef service de poste opératoire, Mr chef service de chirurgie homme aussi tous les infirmiers et les infirmières.*

Ainsi à tous l'équipe de laboratoire EPSP de Médéa, nous adressons nos vifs remercîments surtout à Mr le chef service ***HMIDA KHLED***

Nous tenons à remercier les membres du jury : ***Mr. BOUCELKHA.A****,* ***Mme. BELKACEM.I*** *et* ***Mme. HOCEINI.A*** *d'avoir accepté de juger ce modeste travail.*

Enfin, nos remerciements s'adressent vivement à tous les professeurs qui m'ont aidé et soutenu tout au long de mon cursus.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mon bon DIEU *de m'avoir accordé la santé, La patience et la volonté pour réaliser ce travail.*

A mon cher père Abderrahim *: ce travail est le tien. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Que Dieu te donne longue de vie, santé et bonheur éternel.*

A ma chère mère Fatiha : *Maman comment je pourrais t'exprimer toute ma reconnaissance, ma joie et ma fierté de t'avoir comme mère. Ce mémoire je te la dédie, elle est le fruit de ton soutien permanente, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

À mes frères et soeurs: *Abderraouf, Mohamed, Ibtihal et Aicha, que Dieu vous donne bonneur, courage et surtout réussite.*

À mes chers grands parents : *Abdelkadder, Rabiaa, Abdelkarim et Baya ,que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

A mes chers oncles et tantes, *pour leurs encouragements, en particulier Mohamed, Zoubir et Habiba qui m'ont vraiment aider.*

A mes chers cousins et cousins*, je vous souhaite tout le bonheur et la réussite.*

A mes adorables trinômes *: Ikram et Sarah qui ont pour moi des vrais sœurs , Merci pour votre fidèle amitié et pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble dans tous la période d'étude.*

A tous mes amies : *Raihana, Chaimaa, Romaissa, Amina, Zineb, Baya, Assia, Soumia, kaouther, sans oublier mes sœurs Ihsane, El Batoul et Touba. J'ai tellement la chance de vous avoir, Merci pour vos encouragements, je vous souhaite plein de succès, de joie et de bonheur.*

A tous ceux *qui je n'ai pas cité ici et qui ont une place dans mon cœur.*

CHAIMAA

En ce moment particulier de ma vie, je dédie ce travail à ceux qui m'ont donné la vie, l'espoir et l'encouragement durant toute mon existence…

A ***ALLAH*** *Le très Haut, le très Grand, le Clément, L'Omniscient, l'Omnipotent. Le Tout Puissant, le très miséricordieux d'avoir permis à ce travail d'aboutir à son terme.*

A mes chers parents, papa ***Abd el karim*** *et mama* ***Nadjet*** *pour tous leur sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, que Dieu les garde et les protège.*

A mes quatre adorables sœurs ***Ichrak*** *et* ***son mari***, ***Anfel, Chaimaa*** *et* ***Hanane****, aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de vous avoir comme sœurs. Sans vous ma vie ne serait que simple.*

A mon cher frère ***Oussama*** *je te souhaite bonheur, réussite et prospérité, que Dieu te protège.*

A mes grands parents ***Mohamed***,***Fares*** *et* ***Fatima el Zahraa****, vous n'êtes plus de ce monde mais votre souvenir reste gravé en ma mémoire tout comme la bonté et la sagesse qui vous a inspiré tout au long de mon éducation restent vivace en mon esprit ! Merci pour vos bons soins dont j'ai de tout temps profité, que Dieu vous accueil dans son vaste paradis.*

A ma grand-mère maternelle ***Anissa*** *qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, que dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.*

À toute ma famille, ***oncles***, ***tantes***, ***cousins***, ***cousines****. Merci à tous pour votre soutien et votre présence.*

A mes chères trinômes ***Sarah****, ma copine dans les bons et les mauvais moments sans oublier son cher papa* ***Mustapha*** *par son aide très précieuse que je ne remercierai jamais assez, et* ***Chaimaa*** *la personne avec qui j'ai passé les plus beaux jours de ma vie, une sœur plus qu'une amie. Que Dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

A ma très chère amie ***Kaouther*** *qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles….*
Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité, ton aide précieuse.

A mes chères amies : ***Zineb*** *,* ***Nousaiba*** *,* ***Romaisaa***, ***Adila***,***Linda*** *,* ***Rania Belhadj***, ***Meriem, Sabriana***,***Amina*** *,* ***Raihana*** *,****Asmaa***, ***Rania Ahemd Masaoud*** ,***louiza..***

Ikram…

Je dédier cette réussite

À Les plus chère personnes de ma vie, mes parent …

A mon pére *Mustapha l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie, mon ombre durant toute ma vie le symbole de l'honnêteté, de la justice et de la bonté, les mots me manquent quand je parle de toi papa*
Aucune dédicace ne saurait traduire la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect envers un père merveilleux
comme toi papa.
A la personne la plus chère à mon coeur ***Maman*** *que j'adore,*
quoi que je fasse ou que je dis, je ne saurai point te remercie comme il se doit
ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence a mes coté a toujours été ma source de force, ce travail et le fruit de tes efforts, de ton amour, de tes prières et tes encouragements
Tu es toujours ma merveille maman.
A ma chère ***sœur loubna****, son mari et mon adorable neveu* ***Mohamed Amir***
Que Dieu vous accorde santé, succès et félicité pour faire de vous un couple uni et heureux à jamais. Que Dieu protège Amir et le bénisse.
A mes sœurettes d'amour ***Amira, Yousra Aya*** *et* ***sérine.***
Je vous souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.
A mon trinômes, mon amie ***chaimaa*** *Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour tu t'exprimer mon affection et mes pensées,*

tu es pour moi une sœurs sur qui je peux compter.

A mon âme sœur, la rencontre de ma vie, Une bénédiction que Dieu m'a bénie, Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être chére comme toi ***ikram*** *Je ne pourrais jamais imaginer la vie sans toi, tu comptes énormément pour moi, Je prie Dieu le tout puissant de préserver notre attachement mutuel, et d'exaucer tous nos rêves.*

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble mes chères amies ***chaimaa et ikram****, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur*

Les emotions les plus belles sont celles que tu ne peux pas expliquer

Sara

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect,

la reconnaissance, aussi c'est tout simplement que

Nous dédions ce mémoire

A nos amies pour l'éternité, ***Ihsane****,* ***El Batoul*** *et* ***tuba****,*

Avec qui nous avons passé des moments gravés à tout jamais.

Ihsano*, le pilier de notre groupe, notre support au moment difficile*

Notre vrai leader, ta rencontre été toujours un gain pour nous.

El Batoul*, le sourire du groupe et la sagesse, la tendresse et la gentillesse*

Tuba*, l'ambiance, la dynamique et le mode active du nos jours*

Vous êtes le charme du groupe.

Insh'allah l'avenir nous rassemble toujours.

A nos amies ***: Kaouther****,* ***Soumia****,* ***Assia****,* ***Baya****,* ***Asmaa****,* ***Selma****.*

Nous vous souhaitons une vie pleine de joie et de bonheur.
A nos camarades de la promo 2015.

Chaimaa, Ikram, Sara

Résumé

Enterobacter sp et *Acinetobacter sp* sont des bacilles à Gram négatif responsables des infections nosocomiales sévères. La pathogénicité réside dans leurs pouvoirs de résister envers des multiples antibiotiques souvent associées aux béta lactamines, aminosides et aux quinolones.

Au cours de notre étude au niveau des différents services de l'hôpital Mohamed Boudhiaf de Médéa, huit bacilles à gram négatif sont isolés à partir de divers prélèvements (urine, pus, l'environnement hospitalier et l'air), dont les éspèces les plus fréquentes sont *E.coli* et *klebsiella sp* avec un taux de 37.5%, suivi par *Proteus sp* et autre bacille à Garm négatif de pourcentage 12.5 %.

Les résultats de l'étude statistique de l'antibiorésistance des *Enterobacter sp* réalisée à partir des données enregistrées dans les archives de l'EPSP de Médéa, montrent que les taux de résistance les plus élevés sont observés à l'égard des béta lactamines : l'amoxiciline + l'acide clavulanique (59%), l'amoxiciline (37%), l'ampiciline (29%). A l'opposé, les antibiotiques les plus actifs sur ces souches sont les aminosides et les fluoroquinolones avec des taux de résistances faibles de (10%) pour gentamicine, (2%) pour ciprofloxacine et acide nalidixique.

Mots clés : *Enterobacter sp, Acinetobacter sp*, infections nosocomiales, pathogénicité Antibiorésistance.

Abstract

Enterobacter sp and *Acinetobacter sp* are Gram-negative bacilli responsible for severe nosocomial infections. Pathogenicity lies in their ability to resist against multiple antibiotics often associated mainly with beta-lactams, aminosides and quinolones.

During our study at the various units of Mohamed Boudhiaf Hospital in Medea, eight gram-negative bacilli were isolated from differents samples (urine, pus, hospital environment and air), of which the most frequent speices are *E.coli* and *klebsiella sp* with a rate of 37.5%, followed by *Proteus sp* and other negative Garm bacilli of 12.5%.

the results of statistical study of the antibiotic resistance of *Enterobacter sp* carried out on the basis of the data recorded in the archives of the EPSP of Médéa, show that the highest resistance rates are observed with regard to beta-lactams: amoxicilin + clavulanic acid (59%), amoxicilin (37%), ampiciline (29%). In contrast, the most active antibiotics on these strains are aminosides and fluoroquinolones with low resistance rates of (10%) for gentamicin and (2%) for ciprofloxacin and nalidixic acid.

Key words: *Enterobacter sp*, *Acinetobacter sp*, nosocomial infections, pathogenicity, antibiotic resistance.

الملخص

Enterobacter sp و*Acinetobacter sp* تعتبر من العصيات سالبة الجرام المسؤولة عن عدوى المستشفيات الحادة. تكمن قدرتها الإمراضية في مقاومتها للعديد من المضادات الحيوية التي غالبًا ما ترتبط بشكل أساسي ببيتا لاكتامين ،أمينوزيد وكينولون .

خلال دراستنا في مختلف وحدات مستشفى محمد بوضياف بالمدية ، تم عزل ثماني عصيات سالبة الجرام من عينات مختلفة (البول ، والقيح ، وبيئة المستشفى ، والهواء) ، الأنواع الأكثر شيوعًا تتمثل في *E.coli* و *klebsiella sp* بنسبة ٪ 37.5، تليها *Proteus sp* وعصية أخرى سالبة الجرام بنسبة ٪ 12.5.

نتائج الدراسة الإحصائية لمقاومة المضادات الحيوية لبكتيريا *Enterobacter sp* التي تم إجراؤها على أساس البيانات المسجلة في أرشيفات مخبر EPSP بالمدية ، أظهرت أن أعلى معدلات المقاومة لوحظت فيما يتعلق ببيتا لاكتامين : الأموكسيسيلين + حمض الكلافولانيك (59٪) ، أموكسيسيلين (37٪) ، أمبيسيلين (29٪). في المقابل ، فإن المضادات الحيوية الأكثر نشاطا على هذه السلالات هي الأمينوزيدات والفلوروكينولونات مع معدلات مقاومة منخفضة (10٪) للجنتاميسين و (2٪) للسيبروفلوكساسين وحمض الناليديكسيك.

الكلمات المفتاحية : *Enterobacter sp*، *Acinetobacter sp* ،عدوى المستشفيات ، القدرة الإمراضية، مقاومة المضادات الحيوية.

TABLES DES MATIERES

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ……..……..…….1

Chapitre I. Généralités sur *Enterobacter sp* et *Acinetobacter sp*

I. Généralités……. 3

1. Infection nosocomiale……..……..... 3

2. Les Entérobactéries……..……..... 3

II. *Enterobacter sp*……..……..... 4

1. Taxonomie du genre Enterobacter…….……..... 4

2. Habitat…….....….5

3. Caractères bactériologiques…….....… 5

3.1. Caractères morphologiques et culturaux……...…….. 5

3.2. Caractères biochimiques…….. 6

4. Pouvoir pathogène……...……..... 7

5. Facteurs de virulence……...……... 7

5.1. Toxines……...……...……. 7

5.2. Adhésines…….…….…….. 7

5.3. Les sidérophores…….... 7

5.4. La capsule…….…… 8

III. *Acinetobacter sp* ….. …….…….…….8

1. Taxonomie actuelle…… 8

2. Habitat……..……..…....8

3. Caractères bactériologiques…… 9

3.1. Caractères morphologiques et culturaux…….. 9

3.2. Caractères biochimiques……...…….....10

4. Pouvoir pathogène et virulence…….…….…….....10

Chapitre II. La résistance aux antibiotiques

I. Les antibiotiques ……..……..…….....12

1. Définition……..... 12

2. Mode d'action……. 12

3. Classification…….….. 12

3.1. Les β-lactamines…….... 13

3.1.1. Définition…….…… 13

3.1.2. Structure chimique et Classification…….……..... 13

3.1.3. Mode d'action……. 14

3.2. Les aminosides……..…...15

3.2.1. Définition…….…… 15

3.2.2. Structure chimique…….….. 15

3.2.3. Mécanisme d'action…….…… 15

3.3. Les quinolones……..…….. 16

3.3.1. Définition et structure chimique……..…. 16

3.3.2. Mode d'action…….…….....…..……. 17

II. La résistance aux antibiotiques…….....….... 17

1. Historique de la résistance……..…….... 17

2. Définition…….…… 18

3. Types de résistances……..……..... 18

3.1. Résistance naturelle (ou intrinsèque)…….…… 18

3.2. Résistance acquise……..…… 19

4. Mécanismes généraux de résistance…….…….... 20

4.1. Mécanismes de résistances des *Enterobacter sp* aux antibiotiques……... 23

4.1.1. Résistance enzymatique……..…. 23

4.1.2. Résistance non enzymatique ……..…….…….25

4.2. Mécanisme de résistance des *Acinetobacter sp* aux antibiotiques…….....28

4.2.1. Mécanismes enzymatiques…….……...……28

4.2.2. Mécanismes non enzymatiques……...……..…30

Matériel et Méthodes

I. Lieu et période d'étude……...……..…….…. 31

II. Type d'étude……...…… 31

III. Matériel biologique……..……. 31

IV. Isolement et identification des souches……..….. 31

1. Prélèvements des échantillons ……...……..31

2. Purification……...…...…….33

3. Identification…….…….. 33

V. Conservation des souches……..……..…..…. 36

VI. L'antibiogramme……..……..…..…. 36

Résultats et Discussion

I. Identification des bactéries à Gram négatifs …….…….....38

1. Caractères phénotypiques des souches Gram négatif isolées…….…….....38

2. Identification biochimique ……..…...40

3. Répartition des souches selon les prélèvements ……..…..….43

4. Répartition des souches selon l'espèce et la nature de prélèvement ..…...…43

5. Répartition des souches selon le sexe et le service……...….45

II. Etude de la résistance aux antibiotiques……..……..…….…….....46

Discussion……..…...…….……..…48

Conclusion et perspectives…….....……..…….…..…52

Références Bibliographiques

Annexes

LISTE DES ABREVIATIONS

ADH : Arginine **d**ihydrolase.

ADN : Acide **D**ésoxyribo **N**ucléique.

Ala : Alanine (Acide aminé).

AmpC : Bêta-lactamase **C**hromosomique.

API 20 E : Analytical **p**rofile **i**ndex **20E** (E= Entérobactéries).

API 20NE : Analytical **p**rofile **i**ndex **20NE** (NE= non Entérobactéries).

Arm : Aminoglycoside **r**esistance **m**ethylase.

ARN : Acide **R**ibo **N**ucléique.

ARNm :ARN **m**essager.

ARNr : ARN**r**ibosomique.

ARNt : ARNde **t**ransfert.

ATB : Antibiotique .

BLSE : Bêta-**L**actamines à **s**pectre **é**tendu.

BMR : Bactérie **m**ulti-**r**ésistante.

C1G : Céphalosporines de première **g**énération.

CGH : Hybridation **g**énomique **c**omparative.

CIT : Citrate de sodium.

E.M.B : Eosine **B**leu de **M**éthylène.

GEL : Gélatinase.

GN : Gélose **N**utritive.

IND: Production d'**ind**ole.

L.A.M : Leeds *Acinetobacter* **M**edium.

LDC : Lysine **déc**arboxylase.

LPS : Lipo**p**oly**s**accharide **.**

MBL : Métallo-**ß-L**actamases.

MF : Mac **F**arland .

MFP : Membrane **F**usion **P**rotein.

MLSA :**M**ultiLocus **S**equence **A**nalys.

ODC : Ornithine **déc**arboxylase.

OMP : Outer **M**embrane **P**rotein **.**

OMS : Organisation **M**ondiale de la **S**anté.

ONPG : Ortho-**n**itro-**p**hényl.β.D.**g**alactopyranoside.

PLP : Protéines Liantles **P**énicillines.

QRDR : Quinolone Resistance Determining Region.

Rmt : ARNr 16S **m**éthyl**t**ransférase.

RND : Resistance-**N**odulation-**D**ivision.

SARM : *S* ***taphylococcus a*** ***ureus r***ésistant à la **m**éticilline .

TDA : Tryptophane**d**ésaminase.

URE : Uréase.

VP : Test de **V**oges-**P**roskauer.

Liste des Figures

Figure 1. Différents modes d'action des antibiotiques**……..……...12**

Figure 2. Le cycle bêta-lactame**……..……..13**

Figure 3. Structure de base des quinolones et fluoroquinolones**……...…..…….……16**

Figure 4. Émergence d'une résistance acquise aux antimicrobiens**…….……20**

Figure 5. Stratégies bactérienne de la résistance aux antibiotiques**……..……21**

Figure 6. Des échantillons urinaires**……...…...…….32**

Figure 7. Remplissage de la galerie API 20E**……...…36**

Figure 8. Aspect morphologique des colonies d'entérobactéries sur le milieu HK**…..…….....38**

Figure 9. Aspect morphologique des colonies d'entérobactéries sur le milieu Mac Conkey **……..……..…39**

Figure 10. Aspect des colonies d'*E.coli* **……...39**

Figure 11. Aspect des colonies de *klebseilla sp* **……..……..39**

Figure 12. Observation microscopique après coloration de gram de *Klebseilla oxytoca* à partir de milieu Hektoen**……..40**

Figure 13. Le résultat positif de test catalase **……..……..40**

Figure 14. Test ONPG positif **……...…...…41**

Figure 15. Test ONPG négatif **……..……...…...…….41**

Figure 16. Résultat négatif de citrate **……...……...…..……41**

Figure 17. Résultat négatif de citrate **……..……41**

Figure 18. Test uréase positif **……..……..42**

Figure 19. Test uréase négatif **…….…....…...42**

Figure 20. Profil biochimique d'*Escherichia coli* **……...…….....….....…42**

Figure 21. Profil biochimique de *klebseilla oxytoca* **……..……..43**

Figure 22. Répartition des souches selon les prélèvements **……..…….....….43**

Figure 23. Répartition des souches isolées par espèce **……...…..44**

Figure 24. Répartition des espèces selon la nature de prélèvement **……...…..44**

Figure 25. Répartition des souches selon le sexe **……..……45**

Figure 26. Répartition des souches isolées selon le service **…….45**

Figure 27. Répartition des souches d'*Enterobacter* selon le sexe et les espèces**…….....…...46**

Figure 28. Taux de la résistance des *Enterobacter sp* aux antibiotiques**…….....……47**

Liste des Tableaux

Tableau1. Caractères différentiels des principales espèces du genre Enterobacter et des espèces anciennement rattachés**……06**

Tableau 2. Habitat et écologie des principales espèces *d'Acinetobacter***……..09**

Tableau 3. La classification et la structure simplifiés des β-lactamines**……...14**

Tableau 4. Les différents prélèvements réalisés **……..31**

Tableau 5. Techniques d'identification biochimiques des bacilles gram négatif**…...34**

Tableau 6. Résultats de la galerie API 20E d'*Escherichia coli***……45**

Tableau 7. Résultats de la galerie API 20E de *klebseilla oxytoca***……*45***

INTRODUCTION

A la fin du XIX e siècle, les travaux de grands microbiologistes comme Pasteur et Koch ont changé l'approche du traitement des maladies infectieuses. En 1929, la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming venait d'ouvrir l'ère des antibiotiques **(Merad, 2014)**. En peu de temps, un grand nombre d'agents antibactériens ont été développés et commercialisés à des fins thérapeutiques, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité humaine importantes **(Muylaert et Mainil, 2012)**.

L'usage des antibiotiques avec une mauvaise compréhension de leur impact écologique et leur utilisation sur les bactéries induit à la sélection des mutants résistants **(Sanders, 2001)** ; la sur-utilisation des antibiotiques et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux sources importantes conditionnant l'évolution de la résistance **(Andremont, 2002)**.

De plus en plus, de souches bactériennes deviennent multi-résistantes, et placent alors les soignants dans une situation d'impasse thérapeutique, et selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), nous pourrions bientôt basculer dans *« une ère post-antibiotique »* dans laquelle des infections bactériennes auparavant facilement guérissables deviendraient à nouveau mortelles.

La résistance a d'abord été constatée en milieu hospitalier qui est considéré comme le réservoir le plus important de microorganismes résistants, puis s'est développé dans la communauté de manière cosmopolite **(Cassini et *al.*, 2019)**. L'augmentation et la dissémination de ce phénomène chez les bacilles à Gram négatif représentent un problème majeur de santé publique à l'échelle mondial, dont l'OMS a déclaré que le groupe des bactéries « ESKAPE » composé des : *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter* spp et *Acinetobacter baumannii* représente les espèces les plus inquiétantes sur le plan de la résistance **(Howard *et al.*, 2012;Potron *et al.*, 2015)**.

Enterobacter sp et *Acinetobacter sp* sont des pathogènes opportunistes responsables d'infections diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite et la méningite **(Fraser *et al.*, 2010)** . Ils sont fréquemment responsable d'épidémies en milieu hospitalier en raison de sa capacité à acquérir des mécanismes de résistance à certains antibiotiques tel que bêta-lactamine, aminosides et fluoroquinolones **(Peleg et *al.*, 2008 ; Towner, 2009)**.

Ces bactéries multirésistantes peuvent présenter deux types de résistances soit naturelle ou acquise, dont les principaux mécanismes de résistance sont tantôt enzymatique

(production de béta lactamase, céphalosporinase…) ou non enzymatique (modification de la cible, les pombes d'efflux…).

Dans ce contexte, notre travail a été entrepris dans l'objectif de :

- L'isolement et identification des *Enterobacter sp* et *Acinetobacter sp.*
- La détermination de profil de résistance de ces deux genres.

Ce manuscrit comporte une partie de synthèse bibliographique des données de la littérature concernant les genres *Enterobacte*r et *Acinetobacter*, leurs particularités bactériologiques ainsi que la résistance aux antibiotiques, une partie de matériel et méthode appliquée suivie par les résultats avec illustrations statistiques.

Nous terminons par des discussions relatant la comparaison de nos résultats aux travaux d'autres chercheurs avec une conclusion et prospectives.

Revue

Biobibliographique

I. Généralités

1. Infection nosocomiale

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les infections nosocomiales peuvent être décrites comme « des infections survenant chez un patient au sein d'un hôpital ou d'un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement» **(OMS, 2008)**.

Les infections nosocomiales représentent aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, étant responsables d'une lourde morbidité mais également d'une létalité non négligeable **(Hamza, 2010)** et du fait de leur fréquence, leur coût socioéconomique **(Zerrouk, 2013).** Le délai d'acquisition est variable selon le type d'infection mais il est habituellement admis qu'un minimum de 48 heures entre l'admission et les premiers symptômes est nécessaire pour parler d'infection nosocomiale **(Cahn et Vezin, 2002).**

L'origine principale et la cause majeure de transmission des bactéries de ces infections était d'une part, le manque d'hygiène et d'autre part les progrès de la médecine et de la chirurgie avec par exemple des soins et des thérapeutiques de plus en plus agressifs qui peuvent être des sources possibles d'infection **(Omar, 2010)**.

Les épidémies de ces infections nosocomiales sont presque toujours associées à une transmission inter-humaine, ou à la contamination de dispositifs médicaux **(Ministère de la santé française, 2002).**

Il existe plusieurs types de bactéries responsables de ces infections, les plus fréquents sont les bacilles Gram (-) comme les entérobactéries et l'*Acinetobacter sp.*

2. Les Entérobactéries

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma *Enterobacteriaceae*. Si le nom de famille est toujours maintenu, en revanche le classement des bactéries dans la famille a beaucoup évolué **(Joly et Reynaud, 2007)**. Actuellement, les entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARN 5S et 16S dont 44 genres sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives: *Escherichiae*, *Klebsielleae, Proteae, Yersiniae et Erwiniae* (**Larpent, 2000**). Les genres les plus communément isolés en bactériologie clinique sont*:Citrobacter, Enterobacter,*

Escherichia, *Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Shigella* et *Yersinia* **(Morice, 2003)**.

Parmi les genres de la famille d'*Enterobacteriaceae*, *Enterobacter* est le genre d'intérêt dans ce chapitre.

I. *Enterobacter sp*

1. Taxonomie du genre *Enterobacter*

Selon le manuel de Bergy's, le genre *Enterobacter* proposé par Hormaeche et Edward en 1960 appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, à l'ordre *Enterobacteriales*, à la classe *Gamma Proteobacteria*, au phylum *Proteobacteria*, et au domaine des *Bacteria* **(Garrity et *al*., 2005)**.

Jusqu'à 1963, ce genre a été composé de deux espèces : *Enterobacter aerogenes* (Décrite par Escherich en 1885) et l'espèce type *Enterobacter cloacae* (Décrite par Jordan en 1890) **(Grimont et Grimont, 2006)**.

Vers la fin du 20éme siècle, un total de 15 espèces appartenait au genre *Enterobacter* : *Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterobacter dissolvens et Enterobacter asburiae* **(Brenner et *al*., 1986)**, *Enterobacter hormaechei, Enterobacter kobei, Enterobacter nimipressuralis, Enterobacter amnigenus, Enterobacter cancerogenus, Enterobacter taylorae,, Enterobacter gergoviae, Enterobacter pyrinus, Enterobacter agglomerans, Enterobacter sakazakii* et *Enterobacter intermedius* (**Grimont et Grimont, 2006)**. Par la suite, des études taxonomiques basées sur l'hybridation ADN-ADN ont mené au transfert de trois espèces *d'Enterobacter* aux genres alternatifs (*Enterobacter intermedius = Kluyvera intermédia* **(Pavan et *al*., 2005)**, *Enterobacter agglomerans = Pantoea agglomerans, Enterobacter sakazakii = Cronobacterspp*.). Le genre comprenait ainsi 12 espèces **(Lehner, 2011)**.

Au fait, la classification des espèces dans le genre *Enterobacter* fait encore l'objet de différents ajustements car de nombreuses études ont rapporté de nouvelles espèces. Pendant la dernière décennie, 17 nouvelles espèces ont été incluses dans ce genre : *Enterobacter cowanii* (**Inoue et *al*., 2000**)*, Enterobacter ludwigii* **(Hoffmann et *al*., 2005)**,*Enterobacter radicincitans* **(Kampfer et *al*., 2005)**, *Enterobacter turicensis, Enterobacter helveticus* **(Stephan et *al*., 2007)**, *Enterobacter pulveris* **(Stephan et *al*., 2008)**, *Enterobacter oryzae* **(Peng et *al*., 2009)**, *Enterobacter arachidis* **(Madhaiyan et *al*., 2010)**,*Enterobacter mori* **(Zhu et *al*., 2011)**, *Enterobacter massiliensis* **(Lagier et**

***al*.2013)**, *Enterobacter siamensis* **(Khunthongpan et *al*., 2013)**, *Enterobacter oryziphilus et Enterobacter oryzendophyticus* **(Hardoim et *al*., 2013)**, *Enterobacter sacchari* **(Zhu et *al*., 2013)**, *Enterobacter xiangfangensis* **(Gu et *al*., 2014)**,*Enterobacter tabaci* **(Duan et *al*., 2015),** *Enterobacter muelleri* (**Kampfer et *al*., 2015**). Ce qui fait qu'actuellement ce genre comporte 29 espèces.

Basées sur des études de génotypage du *hsp60*- et *rpoB*, d'analyse MLSA et d'hybridation génomique comparative (CGH), les espèces : *Enterobacter dissolvens, Enterobacter asburiae, Enterobacter hormaechei, Enterobacter kobei, Enterobacter ludwigii et Enterobacter nimipressuralis* ont été étroitement reliées à *Enterobacter cloacae*, ayant un ADN lié de plus de 60 % et ont été englobées dans un groupe nommé *Enterobacter cloacae complex* **(Lehner, 2011)**.

2. Habitat

Les *Enterobacter* peuvent être trouvées dans l'environnement naturel tel que le sol, l'eau et la végétation, également dans une vaste gamme de produits alimentaires (viandes, œufs, produits laitiers...) **(Lehner, 2011)**.

Les espèces les plus rencontrées en milieu clinique sont *Enterobacter cloacae complexe* et *Enterobacter aerogenes*, elles sont également des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux, elles végètent également la peau et les muqueuses (**Grimont et Grimont, 2006)**.

En milieux hospitaliers ces espèces *d'Enterobacter* ont été isolées comme des polluants communs de diverses surfaces inertes, des équipements de préparation et du matériel médicochirurgicaux. Aussi bien que les mains et les vêtements de personnel médical. Elles sont présentes dans les unités d'urgences dans le monde entier **(Lehner, 2011).**

3. Caractères bactériologiques

3.1. Caractères morphologiques et culturaux

Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles droits à Gram négatif, de 0.6 à 1.0 µm de diamètre sur 1.2 à 3.0 µm de longueur, ils se présentent de manière isolée, groupée, ou en courtes chainettes ; mobiles par des flagelles péritriches (généralement de 4 à 6) et ils sont asporogénes comme toutes les entérobactéries .

L'isolement d'*Enterobacter sp* se fait sur les milieux classiques du laboratoire généralement utilisés pour l'isolement des entérobactéries (Drigalski, éosine bleu de

méthylène, MacConkey et Hektoen), elles se développent en aéro-anaérobiose aux températures mésophiles d'incubation (de 30°C à 37°C) et forment après 18 à 24 heures des colonies rondes, de 2 à 3 mm de diamètre, légèrement irisées ou mates, sèches ou mucoïdes et avec des contours irréguliers. Des virements de couleur sur le milieu sont observés suite à la fermentation du lactose chez 80% des souches **(Lehner, 2011)**.

3.2. Caractères biochimiques

Les espèces de ce genre présentent les mêmes caractères biochimiques généraux des entérobactéries. Elles fermentent le glucose avec production d'acide et de gaz, elles ont une β- galactosidase et elles sont rouge méthyle négatives, oxydase négatives, catalase positives; VP (+/-), ODC (+), ADH (+/-), uréase (-), la TDA, la production d'indole et d'H2S sont négatives **(Berche et *al*., 1988; Avril et *al*., 2000)**.Les différentes réactions permettant la différenciation des principales espèces sont indiqués dans le **Tableau 1**.

Tableau 1. Caractères différentiels des principales espèces du genre Enterobacter et des espèces anciennement rattachés **(Denis et *al*., 2016).**

	E.cloacea	*E.aerogenes*	*E.gergoviae*	*Cronobacter sakasakii*	*E.asburiae*	*E.amnigenus*	*E.cancerogenus*	*Pantoea-aglomeranc*	*Hafnia-alvel*
VP	+	+	+	+	-	+	+	d	+à 22°C d à 37°C
Mobilité	+	+	+	+	+	+	+	d	+à 22°C d à 37°C
Pigment jaune	-	-	-	+	-	-	-	d	-
Uréase	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LDC	-	+	d	-	-	-		-	+
ODC	+	+	+	+	+	+	+	-	+
ADH	+	-	-	+	d	d	d	-	-
Citrate de simmon	+	+	+	+	+	d	-	+	- (+ en 3j)
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	+	+ à 22°C d à 37°C
Sorbitol	+	+	-	-	+	d	-	d	-
Raffinose	+	+	+	+	+	d		d	-

d : différent suivant les genres ou les espèces.

4. Pouvoir pathogène

Différentes espèces constituent ce genre. Certains n'ont jamais été associés à des infections humaines. Les espèces les plus souvent isolés incluent *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes* qui sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intra-abdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites **(Fraser *et al.,* 2010)**, méningites ou suppurations diverses (**Iabadene et *al*., 2010)**.Ces espèces sont suivi par l'*Enterobacter sakazakii* qui est l'agent d'infections rares mais sévères , touchant particulièrement les très jeunes enfants, les personnes âgées et les sujets immunodéprimés. Cette espèce se différencie des autres *Enterobacter* par son pigment jaune ***(*Leclercq, 2006)**.

5. Facteurs de virulence

5.1. Toxines

Les espèces du genre *Enterobacter* ont une endotoxine (le lipide-A) qui joue un rôle majeur dans la septicité et aussi elle est le stimulant majeur de la libération des cytokines, qui induit l'inflammation systémique et ses complications. Plusieurs autres toxines ont été rapportées chez *Enterobacter*, les plus importantes ont été une toxine *Shiga-Like*, et une thermostable α-hémolysine *coli-Like* isolées chez des souches *d'Enterobacter cloacae complex* **(Lehner, 2011)**.

5.2. Adhésines

L'adhésion de pathogène se fait généralement par l'intermédiaire des fimbriae organisées en hélice formant les filaments, plus fins et plus courts que ne le sont les flagelles. Ils sont souvent hemagglutinant (HA).

La plupart des souches *d'Enterobacter* produisent un hemagglutinant mannose-sensible (MME HA) associé au type 1 fimbriae (épais, canalisé, de diamètre externe 7 à 8 nm). Ou au type 3 fimbriae (mince, non canalisée, de diamètre externe de 4 à 5 nm) **(Lehner, 2011).**

5.3. Les sidérophores

Les *Enterobacteriaceae* potentiellement pathogènes produisent des systèmes de haute affinité (les sidérophores) pour solubiliser et importer le fer **(Grimont et Grimont, 2006 ; Lehner, 2011)**.

Le fer est associé aux molécules transporteurs comme la transferrine (le sérum), la lactoferrine (le lait et d'autres sécrétions), ou isolé dans des cellules (les protéines hème).

La production de sidérophores enterobactines est commune chez toutes les espèces du genre *Enterobacter*, et la production d'aérobactines a été rapportée uniquement chez *Enterobacter cloacae complex* **(Lehner, 2011).**

5.4. La capsule

Environ 81 % des souches *d'Enterobacter aerogenes*s ont entourées par une capsule mince liée aux antigènes capsulaires de *Klebsiella*. Ainsi, cette capsule protège la bactérie de la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles et de l'effet bactéricide des facteurs sériques. Les antigènes capsulaires *d'Enterobacter aerogenes* réagissent avec les antisérums suivant : K4, K11, K26, K42, K59 et K68 **(Garrity et *al*., 2005; Lehner, 2011)**.

II. *Acinetobacter sp*

1. Taxonomie actuelle

L'histoire du genre *Acinetobacter* débute au début du XXème siècle avec la description par un microbiologiste néerlandais Martinus Wiliem Beigerinck d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* isolé à partir de prélèvement de sol. C'est en 1954 que Brisou et Prévost proposent la désignation du genre *Acinetobacter* (du grec *akinetos «* Incapable de bouger ») **(Beijerinck, 1911 ; Brisou et *al*., 1954)**. Une avancée majeure dans l'histoire du genre *Acinetobacter* a été réalisée en 1986 grâce aux techniques d'hybridation ADN/ADN de Bouvet et Grimont qu'ils ont distingué 12 espèces génomiques d'*Acinetobacter* parmi lesquelles quelques-unes ont été dénommées : *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter johnsonnii*, *Acinetobacter lwoffii*. Le genre *Acinetobacter* comprend 34 espèces génomiques et 25 espèces dénommées (**Nemec et *al*., 2009,2010,2011).**

Cependant il a appartenu pendant longtemps à la famille des Neisseriaceae, mais il fait parti depuis 1991 de la famille Moraxellaceae avec Moraxella et Psychrobacter, au sein de l'ordre Gammaproteobacteria **(Gordon et Wareham, 2010)**.

2. Habitat

Les bactéries du Genre *Acinetobacter* sont des bactéries ubiquitaires, elles se rencontrent dans l'environnement (sol, eau douce et marine) et dans les produits alimentaires (lait, viande, volailles). Elles peuvent appartenir à la flore transitoire de l'homme notamment la flore cutanée (creux axillaire, espaces interdigitaux et région inguinale), digestive et oropharyngée **(Rivière, 1995)**.

Tableau 2. Habitat et écologie des principales espèces *d'Acinetobacter* **(Nemec et *al*., 2011 ; Joly-Guillou et Kempf, 2013)**

Nom de l'espèce	Habitat principale et réservoir
A.calcoaceticus	Sol , homme
A. baumannii	Homme : 80% des isolats cliniques : secondairement environnement
A.pittii	Sol , homme (< 1% en France) :1 épidémie décrite
A.nosocomialis	Homme : secondairement environnement
A.haemolyticus	Boues actives ;homme ocasionnel
A.junii	Environnement : isolats cliniques (4 à 11 %)
A.johnsonnii	peau humain – isolats cliniques (3%) ; carcasses volailles ; boues actives ; élimination des phosphates
A.lwoffii	Animaux et produits dérivés ; sol ; boues actives

A. baumannii constitue de loin la principale espèce du genre *Acinetobacter* impliquée en clinique et est responsable de près de 10 % des infections nosocomiales **(Denis et *al*., 2016)**.

Elle peut être isolé de divers matériels ; les cathéters, les appareils de ventilation artificielle, le robinet, les matelas et les oreillers **(Bergogne-Bérézin, 2010).**

A. baumannii est également retrouvé sur la peau de personnels soignants et de patients avec un portage plus élevé chez les patients **(Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006 ; Savov et *al.*, 2002)**. Elle colonise aussi les voies respiratoires et le tractus intestinal des patients hospitalisés.

3. Caractères bactériologiques

3.1. Caractères morphologiques et culturaux

Les *Acinetobacter* sont des coccobacilles à Gram négatif, immobiles et non sporulés. En phase exponentielle de croissance, ilss sont des bacilles de diamètre de 0,9 à 1,6µm et de longueur de 1,5 à 2,5µm, souvent associés en paires ou en chaînes de longueurs variables **(Doughari et *al.*, 2011).**

Les bactéries du Genre *Acinetobacter* sont peu exigeantes, elles se développent facilement sur les milieux classiques : gélose au sang et Mueller Hinton, sur milieux différentiels tels qu'E.M.B (Eosine Bleu de Méthylène), Drigalski et Mac Conkey. Récemment un nouveau milieu sélectif et différentiel a été décrit : Leeds *Acinetobacter* Medium (L.A.M.) qu'il permet d'isoler les souches d'*Acinetobacter* recueillies dans

l'environnement ou dans des prélèvements cliniques. *Acinetobacter* croissent bien sur les milieux de culture de routine avec une température optimale de 33 à 35°C. Seule *Acinetobacter baumannii* se croitre à 44°C.

Les colonies d'*Acinetobacter* se développent en 24 heures sur milieux cités géloses, elles ont 2 à 3 mm de diamètre, elles sont convexes, luisantes, blanchâtres et parfois hémolytiques sur gélose au sang **(Rivière, 1995)**.Dans les cultures âgées les bactéries présentent un aspect sphérique ou filamenteux **(Doughari et *al*., 2011)**.

3.2. Caractères biochimiques

Ces bactéries sont aérobies strictes, oxydases négatives, catalases positives, non fermentaires et ne réduisent pas les nitrates. C'est le test d'oxydase négative qui sert de test rapide et présomptif pour distinguer l'*Acinetobacter* des autres bactéries non fermentaires **(Bergogne-Berezin et Towner, 1996)**.

4. Pouvoir pathogène et virulence

Par le passé, le genre *Acinetobacter* était considéré comme faiblement pathogène. Mais la description de pneumonies communautaires graves à *Acinetobacter* indique que ces bactéries peuvent avoir un pouvoir pathogène important **(Joly-Guillou, 2005)**.

Cette bactérie est responsable d'une bactériémie et d'autres manifestations cliniques tel que : pleurésies, péritonite chez les dialyses, méningites, ostéomyélites, endocardites sur prothèses valvulaires **(Denis et *al*., 2016)**.

Bien qu'à l'origine, il s'agisse de saprophyte de l'environnement, de virulence limitée, l'*Acinetobacter* possède en réalité plusieurs facteurs de virulence qui s'expriment selon les conditions de son développement **(Baidoo, 2017)** :

- **Lipopolysaccharide (LPS)** : impliqué dans le choc septique endotoxinique **(Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006)**.
- **Hydrophobicité de la surface cellulaire** : *Acinetobacter spp* présente une surface cellulaire de caractère hydrophobe, une caractéristique favorisant son adhérence sur des polymères (cathéters, sondes) **(Figueiredo, 2011)**
- **Enzymes extracellulaires** : L'activité enzymatique de certaines enzymes comme les estérases, les aminopeptidases, les uréases et les phosphatases acides, pourraient aussi jouer un rôle dans la virulence chez *Acinetobacter spp* **(Bergogne-Bérézin et *al*., 2008)**.

- **Protéine de membrane externe (« Outer Membrane Protein » OMP)** : OmpA est une protéine de membrane externe, elle est impliquée dans l'apoptose cellulaire, et est à l'origine de la réponse inflammatoire **(Choi et *al.*, 2005).**
- **La production d'exopolysaccharides**, décrite pour 30% des souches d'*Acinetobacter* protège les bactéries vis-à-vis des défenses de l'hôte **(Obana, 1986)**.
- **Verotoxin (vtx)** : La production de vérotoxine est associée à des diarrhées sanglantes et a été mise en évidence la première fois chez *A. haemolyticus* **(Grotiuz et *al.*, 2006**).
- **Sidérophores** : Ce sont des chélateurs de fer synthétisés et sécrétés par les microorganismes et chez les *Acinetobacter* sont appelés « acinetobactins » et sont principalement constitués de l'histamine **(Mihara et *al.*, 2004)**.
- **Le quorum-sensing** : c'est la capacité d'une bactérie à percevoir et à répondre à la densité de la population bactérienne au moyen d'une molécule de lactone-homosérine acétylée **(Joly-Guillou et Bergogne-Bérézin, 2006)**.chez *Acinetobacter*, quatre systèmes de quorum-sensing ont été décrits. Ces derniers semblent jouer un rôle d'auto-induction de facteurs de virulence multiples. **(Figueiredo, 2011)** .
- **Biofilm** : Une étude récente a montré la capacité d'*Acinetobacter spp* à former un biofilm qui est une structure constituée de cellules bactériennes entourées de polysaccharides. Cette structure permet un échange de matériel génétique entre les bactéries et assure leur survie, notamment dans l'environnement hospitalier .le complexe *A. baumannii-A. calcoaceticus* a la plus grande capacité de former un biofilm, par rapport à d'autres espèces (*A. johnsonii*, *A. lwoffii* et *A. radioresistens*) **(Marti et *al.*, 2011)**.

I. Les antibiotiques

1. Définition

Les antibiotiques sont définis comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique **(Lavigne, 2007)**, capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs **(Perronne, 1999)**.L'efficacité d'un antibiotique dépend de sa cible ou son point d'impact. Si cette cible n'existe pas, le germe est résistant à l'antibiotique **(Florian, 2017)**.

Les antibiotiques sont groupés par familles ou classes en fonction de leurs propriétés structurales. Pratiquement toutes les classes d'antibiotiques ont été découvertes dans un « âge d'or », qui s'est étendu de 1936 à 1962 **(Chardain et *al* ,2006).**

2. Mode d'action

Les antibiotiques peuvent atteindre des cibles différentes et ainsi agir selon différents modes ; notamment inhibant la synthèse de la paroi cellulaire (peptidoglycane), des acides nucléiques, des protéines, le fonctionnement de la membrane cytoplasmique ou des voies métaboliques **(Figure 1)** (**Prescott *et al.*, 2010**).

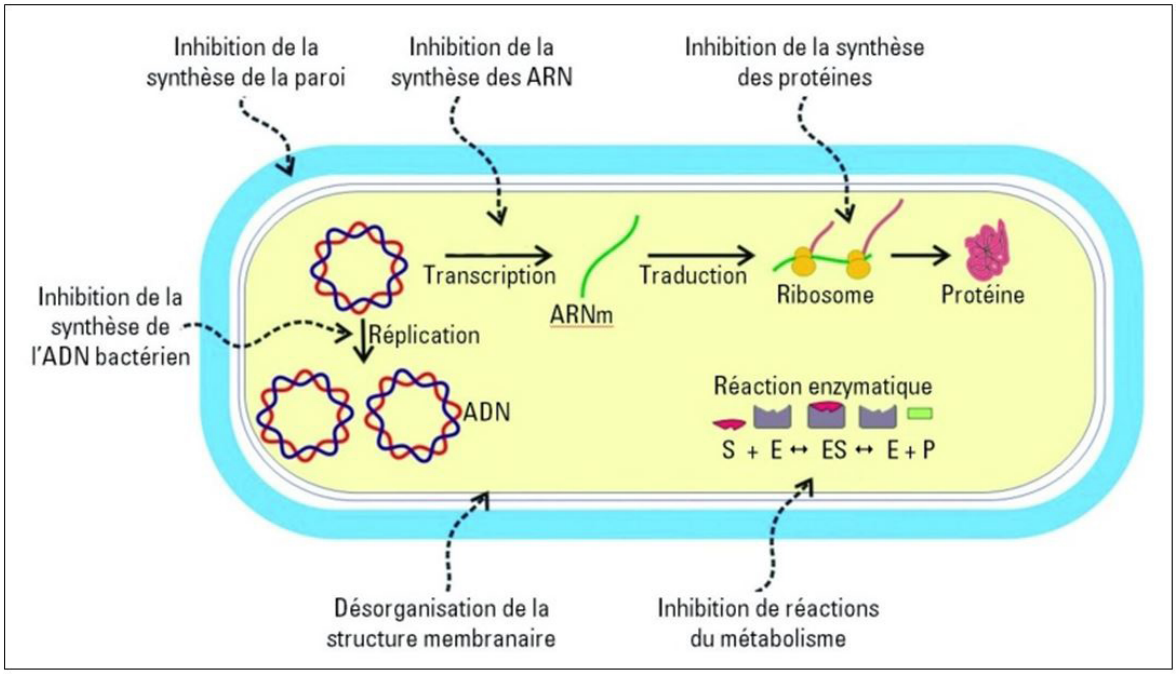


Figure 1. Différents modes d'action des antibiotiques (**Belhabla et *al.*, 2017**).

3. Classification

Les antibiotiques sont classés en fonction de leur origine, leur structure et leur mécanisme d'action **(Fomba, 2006)**. Il existe sept classes majeures d'antibiotiques utilisés

en milieu clinique : les β-lactamines, les glycopeptides, les aminoglycosides, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les sulfamides **(Nukaga et *al.,* 2003)**.

Dans cette partie nous nous intéressons aux β-lactamines, aminosides et aux quinolones, qui ont fait l'objet de la partie pratique de ce mémoire.

3.1. Les β-lactamines

3.1.1. Définition

Les bêta lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes, et leur nombre n'a cessé de croître depuis la découverte de la pénicilline G. Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle β-lactame **(Figure 2) (Cavallo et *al*., 2004)**.

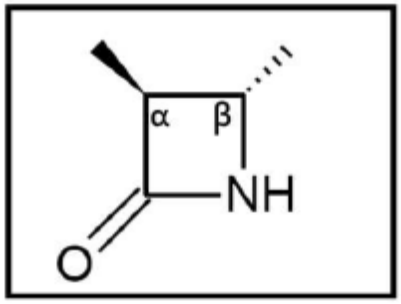
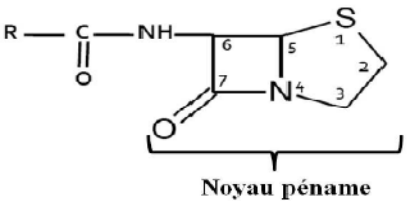
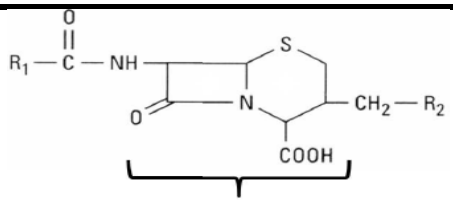
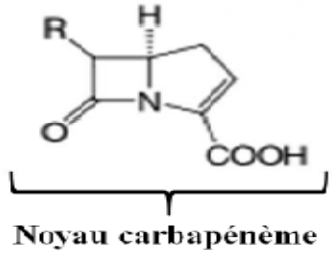
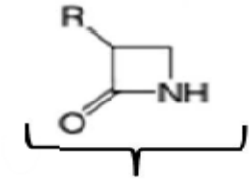
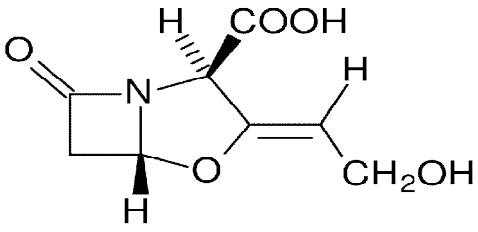


Figure 2. Le cycle béta-lactame **(Figueiredo, 2011)**.

3.1.2. Structure chimique et Classification

Les bêta-lactamines partagent une structure commune qui comprend de façon constante un cycle β-lactame et pour la plupart d'entre elles, un second cycle. Ainsi, en fonction des cycles et des chaines latérales associées, on les exprime dans le tableau ci-dessus **(Tableau 3)** (**Chaabane et *al*., 2009).**

Tableau 3. la classification et la structure simplifiés des β-lactamines.

Nomenclature	Les composants	La structure
Les pénames (Les pénicillines)	les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β-lactame. **(Nauciel, 2000)**.	 Noyau péname
Les céphèmes (Les céphalosporines)	constituées d'un noyau β-lactame associé à un noyau dihydrothiazine **(Yala et *al*., 2001)**	 Noyau céphème
Les carbapénèmes	se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome ce carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3. **(Wolff et *al*., 2009)**.	 Noyau carbapénème
Les monobactames	Antibiotiques constitués d'une molécule caractérisée par un noyau de base, limitée au cycle bêta-lactame **(Chaabane et *al*., 2009)**.	 Noyau monobactam
Les clavames (l'acide clavulanique)	Ces molécules sont des inhibiteurs de β-lactamases, ayant une structure de pénicilline mais dépourvues d'activité antibiotique significative **(Perronne, 1999)**.	

3.1.3. Mode d'action

Les antibiotiques de type β-lactamines sont des inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne. En mimant la structure tridimensionnelle de la séquence D-Ala-D-Ala

du pont peptidique du peptidoglycane (Distance adéquate entre le carboxylate et le cycle amide), les ß-lactamines se comportent comme des inhibiteurs de la transpeptidase, enzyme clé dans la synthèse du peptidoglycane qui assure la forme et l'intégrité de la cellule bactérienne, que l'on connaît aussi comme des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) **(Fisher et *al*., 2015 ;Höltje, 1993 ;Molitor, 2010).**

Une fois le noyau de la molécule de bêta-lactamine est lié irréversiblement au site actif du PLP, il empêche la transpéptidation finale (*crosslinking*) de la nouvelle double couche de peptidoglycane et perturbe donc la synthèse de la paroi cellulaire. Cette inhibition aboutit à l'arrêt de la croissance bactérienne (l'effet bactériostatique) **(Tankovic, 2000)**. L'effet bactéricide arrive de l'activation de l'auto-hydrolyse de la paroi bactérienne, déclenchée par une accumulation de précurseurs de peptidoglycane et donc la mort cellulaire **(Tankovic, 2000)**.

3.2. Les aminosides

3.2.1. Définition

Les aminosides, également appelés aminoglycosides sont des molécules naturelles produites par des actinomycètes ou en sont dérivées par hémi-synthèse. Ils sont constitués de deux ou plusieurs sucres aminés liés par une fonction glycosidique à un noyau hexose **(Tuikens et Spinewine, 2002)**. Leurs fonctions amines sont ionisées formant des polycations. Les premiers aminosides étaient la streptomycine et la néomycine, suivies de la gentamicine, l'amikacine, la netilmicine et la tobramycine **(Belabbeci, 2014)**.

3.2.2. Structure chimique

Les aminoglycosides sont des molécules comportant de Nombreuses fonctions alcool et amine qui peuvent être éventuellement modifiées par méthylation , guanidinylation ou ajout d'une chaine secondaire **(Lombes, 2012)** .

3.2.3. Mécanisme d'action

Les aminosides inhibent la synthèse des protéines, mais perturbe aussi la paroi cellulaire. Malgré leur taille petite et leur caractère hydrophile, seulement une petite quantité des aminoglycosides est transportée par les porines **(Molitor, 2010)**. Donc la pénétration dans les membranes externe et cytoplasmique est divisée en deux étapes EDP I et EDP II (Energy dépendent phase I et II). Pendant EDP I une accumulation d'aminoglycosides sur la membrane extérieure où la structure polycationique de l'aminoglycoside aide à interférer avec le LPS, cette étape a déjà un effet bactériostatique. Par la suite EDP II est représenté par l'activité bactéricide qui finit en accumulation plus

rapide de l'aminoglycoside en créant des fissures dans la membrane extérieure aboutissant à une assimilation plus rapide d'antibiotique, et la sortie de contenu intracellulaire **(Tankovic, 2000)**.

Une fois dans le cytoplasme, les aminoglycosides causent un taux accru d'erreur pendant la synthèse protéique, en alternant presque toutes les étapes de la traduction, soit par la fixation incorrect d'ARNt sur l'ARNm soit par l'empêchement de la translocation ribosomale , ce qui induit la synthèse de protéines erronées qui causent l'augmentation de la perméabilité, l'altération de la respiration cellulaire et donc conduit à la mort de la bactérie **(Belabbaci, 2014)**.

3.3. Les quinolones

3.3.1. Définition et structure chimique

Les quinolones sont des agents antibactériens obtenus par synthèse chimiques, dérivent de l'acide nalidixique **(Page et *al*., 1999) .**

Ces antibiotiques de première génération, n'agissent que sur les bacilles à Gram négatif et ne sont utilisées que dans le traitement des infections urinaires **(Perronne, 1999)**. Actuellement de nouveaux composés de cette même famille d'antibiotiques ont été mis au point, dont certains additionnés d'un atome de fluor (norfloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine, ofloxacine…) **(Figure 3)** et la nomenclature devient fluoriquinolones qui possèdent une activité plus étendue et sont indiqués dans le traitement des infections systémiques et tissulaires à bacilles à Gram négatif et à cocci à Gram positif **(Nordmann, 2006)**.Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique , avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4 **(Figure 3) (Faure, 2008)**.

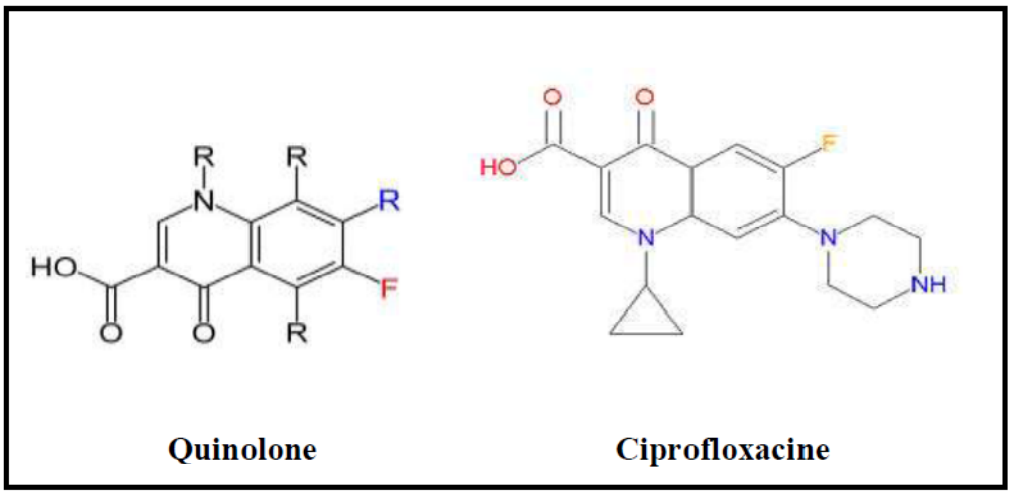


Figure 3. Structure de base des quinolones et fluoroquinolones **(Faure, 2008)**.

3.3.2. Mode d'action

Pour atteindre leur cible, les quinolones doivent traverser la paroi bactérienne et la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif. Chez les bactéries à Gram négatif, ce passage est facilité par une diffusion passive à travers les porines en fonction de leur degré d'hydrophobicité et de leur poids moléculaire, et il s'agit d'un transit direct lorsqu'on parle de la double couche phospholipidique.

Les quinolones inhibent les enzymes cellulaires impliquées dans le maintien de la structure de l'ADN ce qui aboutit alors l'arrêt de la synthèse d'ADN **(Battraud, 2017)**.Ils ont pour cible deux enzymes de la classe des topoisomérases, l'ADN-gyrase [cible principale chez les Gram (-)] et la topoisomérase IV [cible principale chez les Gram (+)].la spécificité d'action est assurée par la liaison des quinolones à ces enzymes avec une affinité 1000 fois plus grande qu'aux enzymes eucaryotes (**Bambeke et *al*., 2008)** .

II. La résistance aux antibiotiques

1. Historique de la résistance

Les premières résistances sont apparues en 1940, à la pénicilline G, puis la streptomycine en 1947. Il s'est passé seulement une courte période pour que les déterminants de la résistance s'incorporent définitivement dans la bactérie, nécessitant alors la création d'autres antibiotiques. La sélection peut être très rapide. La première population résistante a été celle du staphylocoque aureus à la pénicilline G passant de 8% en 1945 à 60% en 1949. Puis les mécanismes de résistance sont identifiés ce qui a permis

le développement de pénicillinases, de la 2ème génération de glycopeptides et des céphalosporines de 2ème puis 3ème génération **(Bush, 2004)**.

La description de bactéries résistantes a toujours suivi de près chaque nouvel antibiotique. En 1943, avant même que l'usage de la pénicilline soit autorisé, des bactéries résistantes par production de bêta-lactamases avaient été décrites. Des souches résistantes sont ainsi apparues très rapidement pour chaque nouvel antibiotique, et ce, quelque soit le mécanisme développé **(Lai, 2013).**

Alors, Le phénomène d'antibiorésistance n'est pas nouveau, mais le nombre de micro-organismes résistants, et multi-résistants, ainsi que les localisations géographiques affectées ne cessent de croître dans des proportions inquiétantes **(Ziai, 2014)**.

2. Définition

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions **(Guardabassi et Courvalin, 2006)**.

3. Types de résistances

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise.

3.1. Résistance naturelle (ou intrinsèque)

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant a la même espèce, elle est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité, une faible affinité ou encore a l'absence de la cible pour l'antibiotique. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à Gram négatif a la vancomycine est naturelle. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise a la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie a l'autre (transmission horizontale) **(Carle, 2009)**.Dans les résistances naturelles, on trouve la capacité de certaine espèce de bactérie à former un biofilm. Ce dernier joue un rôle dans le ralentissement de la

diffusion de l'antibiotique par la synthèse et l'augmentation de l'épaisseur de glycane. Bien qu'il est chargé négativement va retenir certains antibiotiques comme les aminosides qui ne pourront pas atteindre leur cible d'action **(Lebeaux et *al*., 2014)** .

3.2. Résistance acquise

La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce **(Wright, 2005)**. Elle ne concerne que quelques souches d'une même espèce mais peut s'étendre à d'autres bactéries. Sa fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace (région, ville, hôpital ou même service). Elle constitue un marqueur épidémiologique **(Calgagno et Lacroix, 2011).**

Ce type de résistance est souvent instable et possèdent deux formes d'acquisition:
Soit par une mutation spontanée, soit par l'acquisition de gènes par un autre microorganisme **(Carle, 2009)**.

- ✓ **Mutation chromosomique spontanée (évolution verticale)**

La mutation chromosomique spontanée constitue une mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ10 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. La prévention de l'émergence de mutants résistants est due de l'association de deux ou plusieurs antibiotiques. Par exemple, la résistance à la rifampicine et aux quinolones résulte toujours d'une mutation **(Carle, 2009)**.

Cette forme d'acquisition est un évènement stable dont la résistance va passer aux générations suivantes de bactéries, donc à la descendance. C'est une transmission verticale **(Battraud, 2017)**.

- ✓ **Acquisition de gènes de résistance par un autre organisme (évolution horizontale)**

L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situe à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels que les plasmides. La résistance à plusieurs médicaments est augmentée par Le transfert d'un seul plasmide. Par exemple, le

Shigella, responsable de la diarrhée, peut transférer un plasmide avec résistance à quatre ou cinq antibiotiques différents.

Les gènes ou les groupes des gènes de résistance peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou conjugaison.

La transformation permet l'acquisition et l'incorporation d'ADN libre dans l'environnement (dénudé) à la suite de la mort de la bactérie mère. (Exemple : le gonocoque résistant à la pénicilline). La transduction est un mécanisme de transfert de gènes, dont le vecteur est un virus bactérien appelé bactériophage. Ce mécanisme permet le transfert d'information génétique entre les bactéries appartenant essentiellement à la même espèce. Les plasmides sont souvent transférés par conjugaison qu'est un transfert de l'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. En pareil cas, la résistance se transmet aux bactéries filles. Les bactéries ayant recul cet élément mobile peuvent se rétablir et redevenir sensibles aux antibiotiques si elles ne sont pas exposées à ces derniers.

La Figure 4 résume la manière dont les bactéries peuvent acquérir de la résistance aux antibiotiques **(Carle, 2009)**.

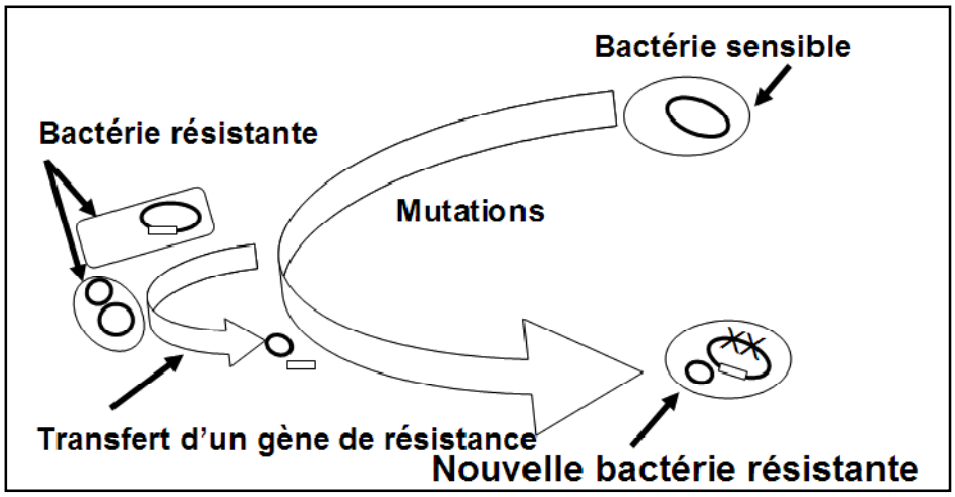


Figure 4. Émergence d'une résistance acquise aux antimicrobiens **(Carle, 2009)**.

4. Mécanismes généraux de résistance

Nous savons que pour agir, un antibiotique devra dans un premier temps pénétrer la bactérie, il devra ensuite arriver à sa cible (via un transporteur ou par diffusion passive), puis se fixer à sa cible pour produire son effet : bactéricide ou bactériostatique **(Battraud, 2017)**.les mécanismes de résistance sont au nombre de 4. (**Figure 05**)

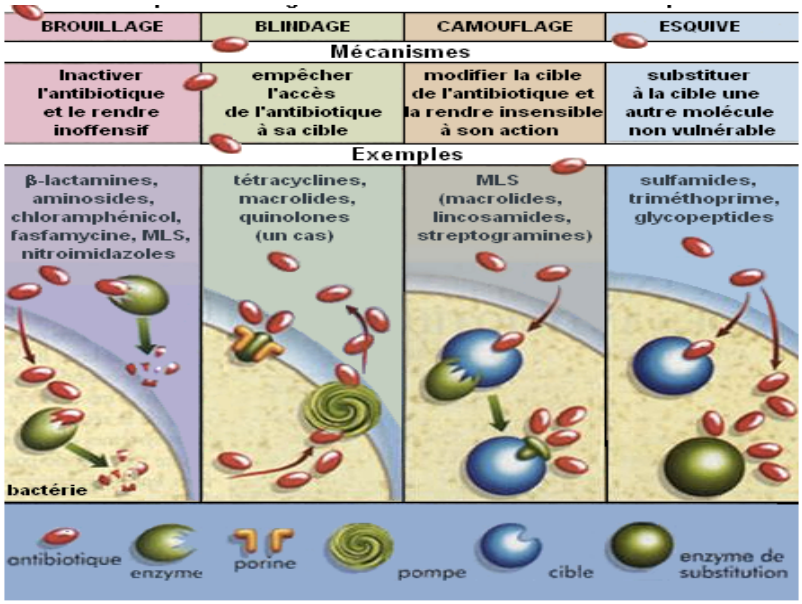


Figure 5. Stratégies bactérienne de la résistance aux antibiotiques **(Battraud, 2017)**.

a. Résistance par imperméabilité

✓ **Imperméabilité de la paroi**

Chez les Gram (–) : la diffusion est bien plus compliquée que celle des Gram (+) à cause de phospholipide et de LPS qu'ils sont composés de membrane externe. A noter que souvent, il y a présence de porines, canaux permettant quand même le passage de certain produit y compris d'antibiotiques à travers la membrane externe **(Battraud, 2017)**.

✓ **Imperméabilité de la membrane externe :**

Chez les enterobactéries ou les *Pseudomonas*, il y a une résistance naturelle aux macrolides, pénicillines G et M, à l'acide fusidique et à la vancomycine. Ces antibiotiques n'arrivent simplement pas à traverser la membrane souvent en raison de leur taille trop importante. Pour ce qui est des antibiotiques hydrophiles, ces derniers traversent la paroi via les porines **(Battraud, 2017)**.

✓ **Imperméabilité de la membrane cytoplasmique**

Pour pénétrer dans la bactérie, l'antibiotique va avoir deux possibilités, il utilisera soit un transport passif ou un transport actif. Pour que ce dernier qu'il est dépendant d'une phosphorylation oxydative de la bactérie se déroule normalement, la bactérie a besoin d'oxygène donc on voit clairement que les bactéries anaérobies seront naturellement résistances aux aminosides puisqu'elles n'utilisent pas d'oxygène pour leur

fonctionnement. La membrane interne cytoplasmique porte sur sa face externe les PLP (protéine liant les pénicillines) enzymes cible des β-lactamines **(Battraud, 2017)**.

- ✓ **Imperméabilité par formation d'un biofilm :**

Certaine bactérie sont capables de produire un film épais qui va ralentir la diffusion de l'antibiotique et l'exposer plus longtemps aux enzymes de dégradation **(Briandet et *al*., 2012**).

b. Résistance par efflux actif

Il s'agit d'un système d'exportation de l'antibiotique en dehors de la bactérie. Il s'agit d'un mécanisme actif, la bactérie synthétise des protéines d'export qui vont emporter l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie. Ainsi il ne peut pas se fixer à sa cible et est inefficace. On connait ce mécanisme notamment pour les tétracyclines **(Poole, 2005)**.

c. Résistance par modification de la cible

La modification structurelle de la cible entrainant une perte d'affinité dans le couple cible antibiotique. La bactérie peut synthétiser une cible modifiée additionnelle via l'apport d'un plasmide par exemple. C'est le cas de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ou SARM **(Courvalin et *al*., 2006)** , elle peut également induire une hyperproduction de la cible : il s'agit d'un phénomène très fréquent qui touche tétracyclines, macrolides, quinolones, β-lactamines, aminosides, rifampicine, bactrim® notamment **(Battraud, 2017)**.

d. Résistance par dégradation de l'antibiotique

La bactérie va synthétiser une enzyme qui va modifier l'antibiotique le rendant inefficace (ATB ne reconnait plus ou ne peut pas se fixer sur son site d'action).Parmi les exemples de la littérature, l'exemple le plus connu est celui du couple β-lactamase et pénicilline. On retrouve ce phénomène pour une autre famille, les céphalosporines cousines des pénicillines **(Ruppé, 2010)**.

e. Résistance par modification du métabolisme bactérien

Ce type de résistance concerne surtout les sulfamides Inhibant la voie métabolique conduisant à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. Les bactéries peuvent compenser en fabriquant plus de précurseur (le PAB) ou en augmentant sa synthèse d'enzyme (la dihydrofolate réductase par exemple) car ces dernières sont inhibées par l'ATB. Elles peuvent également synthétiser des enzymes avec moins d'affinité pour l'ATB **(Battraud, 2017)**.

4.1. Mécanismes de résistances des *Enterobacter sp* aux antibiotiques

4.1.1. Résistance enzymatique

a. Les bêtalactamines : production de bêta-lactamases

Les bêta-lactamases sont des enzymes bactériennes qui hydrolysent le noyau bêta-lactame et qui rendent l'antibiotique inactif avant qu'il n'atteigne sa cible : les « protéines de liaison à la pénicilline » (PLP).L'inactivation des bêta lactamines se fait par les bêta-lactamases qui partagent une affinité structurale avec les PLP leur permet de lier, acétyler et hydrolyser **(Massova et Mobashery, 1998)**.

Selon la classification moléculaire d'Ambler les bêta-lactamases sont divisés en quatre groupes (A, B, C et D) **(Ambler, 1980)**.Les bêta-lactamases des classes A, C et D possèdent dans leur site actif une sérine qui intervient dans le mécanisme d'acétylation au cours de l'hydrolyse des bêta-lactamines. En revanche la classe B inclut les métallo-bêta-lactamases dont l'activité nécessite la présence d'ions métalliques. Une classification fonctionnelle a été proposée par Bush *et al.* **(Bush et *al.*, 1995)**, dans laquelle les auteurs tiennent compte de la fonctionnalité des bêta-lactamases (substrat, profil d'inhibition) et divisent ces enzymes en quatre groupes (de 1 à 4) avec plusieurs sous-groupes.

Chez *Enterobacter*, il existe plusieurs systèmes enzymatiques responsables de la dégradation des bêtalactamines, et qui permettent aux espèces de ce genre d'acquérir différents niveaux de résistance :

- ✓ **AmpC chromosomiques**

Les bêta-lactamases AmpC sont des céphalosporinases du groupe fonctionnel 1 et de la classe moléculaire C dans la classification Bush-Jacoby-Medeiros des bêta-lactamases. Elles sont codées par des gènes ampC **(Bush et *al.*, 1995)**. Une mutation au niveau du gène régulateur (répresseur ampR) du gène ampC rend les souches fortement résistantes par hyperproduction constitutive des bêta-lactamases à la plupart des antibiotiques de la famille des bêtalactamines. Chez *Enterobacter spp* , l'expression du gène ampC est réprimé , mais sa dérépression peut être induite par la présence de bêta-lactamines . Ces enzymes ne sont pas inhibées par des inhibiteurs classiques de bêta-lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam) **(Molitor, 2010)**. L'ampicilline, l'amoxicilline, la première génération des céphalosporines, la deuxième génération des céphalosporines et les céfamycines sont des inducteurs puissants de bêta-lactamase AmpC.

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

Les BLSE sont des β-lactamases de classe A qui dérivent des pénicillinases de type TEM-1, TEM-2 et SHV-1 suite à la substitution de 1 à 4 acides aminés. La résistance de ces enzymes est à haut niveau à toutes les pénicillines, aux C1G, C2G et elle est variable aux C3G et C4G et à l'aztréonam **(Elhani, 2012)**. Ces enzymes sont inactivées par les inhibiteurs de bêta-lactamase et elles ne possèdent pas de mécanisme moléculaire d'induction ou de dérépression. Contrairement à l'AmpC, une autre enzyme IBC-1, portée par un intégrant et capable d'hydrolyser le céfotaxime et le céftazedime a été détectée pour la première fois chez une souche *d'Enterobacter cloacae* **(Giakkoupi et *al.*, 2000)**. Ces dernières années, une nouvelle famille de BLSE de type CTX-M qui hydrolyse préférentiellement le céfotaxime est apparue, ces enzymes se sont rapidement propagées au niveau mondial chez *Enterobacter* dans certaines zones géographiques **(Rossolini et *al.*, 2008)** y compris l'Algérie .Un autre type de BLSE, les oxacillinases (OXA) qui hydrolysent l'oxacilline et ses dérivés a été rarement rapporté chez *Enterobacter*, elles sont classées dans le groupe fonctionnel 2d et la classe moléculaire D.

- ✓ **Les carbapénèmases**

La résistance du genre *Enterobacter* aux carbapénèmes a été rapportée et considérée comme une menace clinique émergente posée par les espèces du genre *Enterobacter, aussi* bien que par d'autre *Enterobacteriaceae*.

Les premières bêta-lactamases impliquées dans la résistance à l'imipénème qui font partie de la classe moléculaire A (sérine actif) et le groupe fonctionnel 2f étaient NMC-A **(Mourey et *al.*, 1999;Osterblad et *al.*, 2012)** et IMI-1 **(Teo et *al.*, 2013; Huang et *al.*, 2015)**.

La production des métallo-bêta-lactamases est un autre type de résistance aux carbapénèmes, ces enzymes sont classées dans le groupe fonctionnel 3 et la classe moléculaires B **(Bebrone, 2007)**.

Chez *Enterobacter sp, plusieurs* types de métallo-bêta-lactamases ont été décrits, causant des épidémies hospitalières dans le monde entier. Elles sont essentiellement de type VIM, IMP, KPC et NDM-1 **(Khennouchi, 2016)**. Ces enzymes sont codées par des gènes plasmidiques facilitant leurs propagations chez toutes les entérobactéries.

b. Aminoside

L'inactivation enzymatique des aminosides est le mécanisme de résistance le plus souvent observé **(Perichon et *al.*, 2007)**. Il existe trois classes d'enzymes différentes classées en fonction du radical qu'elles ajoutent à la molécule d'aminoside : les N-

acétyltransférases (AAC) qui neutralisent les fonctions -N112, les O-nucléotidyltransférases (ANT), et les O-phosphotransférases (APH) qui neutralisent les fonctions -OH **(Vakulenko et Mobashery, 2003)**. Le déterminisme génétique de ces enzymes est souvent plasmidique, ce qui permet leur échange entre les bactéries **(Perichon et *al.*, 2007)**.

Les gènes codant pour ces enzymes de résistance sont souvent portés sur des plasmides, ensemble avec les BLSE, qui est une autre raison à leur grande diffusion. Par exemple : le plasmide trouvé chez *E. aerogenes* qui code pour la BLSE de type TEM-24, porte également le déterminant de résistances aux aminoglycosides de type Aminoacétyl-transferase AAC-6' **(Bosi et *al.*, 1999)**.

c. Les quinolones

Chez le genre *Enterobacter* des mécanismes de résistance enzymatique aux ces antibiotiques sont médiés par les plasmides. Ces derniers codent pour des enzymes de la famille des pentapeptides, qnrA, qnrB et qnrS, qui protège l'ADN-gyrase, et le topo-isomérase IV de l'activité inhibitrice des quinolones **(Hooper, 2000 ; O'Donnell et Gelone, 2000)**.Elles sont fréquemment décrites dans des souches *d'E. cloacae complex* et *E. aerogenes.*

Elles sont généralement codées par des gènes plasmidiques qui portent d'autres mécanismes de résistance comme les BLSE **(Iabadene et *al.*, 2008;Huang et *al.*, 2012)**.

4.1.2. Résistance non enzymatique

- **Modification de la cible de l'antibiotique**
  - **Les bêtalactamines : Modification des « protéines de liaison à la pénicilline »**

La modification de la cible de la famille des bêtalactamines qui est les PLP, rend l'attachement (donc l'activité) de l'antibiotique difficile, voire impossible **(Molitor, 2010)**. Le changement du PLP 1a, 1b et/ou 2 mène à la résistance car les PLP modifiées présentent une affinité plus faible pour les bêtalactamines. Elles sont relativement résistantes à l'inactivation par les pénicillines et sont capables de remplir les fonctions des PLP lorsque ces dernières sont inactivées **(Pfeifle et *al.*, 2000)**.

- **Les aminosides : Modification de la cible ribosomale**

Les modifications de la cible ribosomale relèvent de plusieurs mécanismes : mutation de l'ARN 16S, et méthylation de l'ARN 16S sur certaines bases impliquées dans la fixation des aminosides au niveau du site A **(Galimand et *al.*, 2003; Nguyen et Lambert, 2012)**.Les mutations de l'ARN16S peuvent être responsables de la résistance à

la streptomycine ou à la spectinomycine. Le facteur limitant à l'apparition de la résistance qui nécessite plusieurs mutations est du aux plusieurs copies de l'opéron rRNA qui se trouvent plusieurs bactéries **(Molitor, 2010)**.

La méthylation de l'ARN 16S confère une résistance de haut niveau à tous les aminosides disponibles utilisés pour la thérapie systémique, à l'exception de la streptomycine. ArmA est la première méthylase responsable de ce type de résistance détectée sur une souche de *Klebsiella pneumoniae*, **(Galimand et *al.*, 2005)**. Cette méthylation a été rapportée chez des souches *d'Enterobacter cloacae complex* et des souches *d'Enterobacter aerogenes* dans plusieurs pays **(Bogaerts et *al.*, 2007;Wu et *al.*, 2008)** y compris l'Algérie **(Khennouchi et *al.*, 2015)**.Une autre méthylase RmtB a été également rapportée sur des souches *d'Enterobacter cloacae*, le gène codant a été porté par des plasmides *IncF* et *IncN* **(Yao et *al.*, 2011)** .

- **Les quinolones : l'ADN gyrase et topoisomérase IV**

Généralement les cible pour les quinolones sont l'ADN gyrase et le topo-isomérase IV (respectivement gyrA et parC). Ces antibiotiques ne peuvent plus se lier à cause des mutations qui mènent aux changements structurels légers de l'ADN gyrase ,ce qui implique ainsi la résistance **(O'Donnell et Gelone, 2000)**. Les mutations sont localisées dans la Région Déterminant la Résistance aux Quinolones (QRDR) de 40 acides aminés de longueur, appartenant à la sous- l'unité A du gyrase **(Hooper, 2000)**. Ces mutations mènent à une résistance importante aux fluoroquinolones (ciprofloxacine, norfloxacine, ofloxacine et levofloxacine) **(Deguchi et *al.*, 1997;Brisse et *al.*, 1999; Minarini et Darini, 2012)**.
En pareil, sur le topo-isomérase IV (parC) les mutations généralement décrites pour le genre *Enterobacter* sont dans les positions similaires à celles du gyrA **(Brisse et *al.*, 1999; Minarini et Darini, 2012)**.

- **Diminution de la perméabilité membranaire**

La cellule des bactéries a Gram négatif, avec sa double couche de lipide asymétrique composée de lipopolysaccharides (LPS) et de phospholipides, forme une barrière presque imperméable pour les éléments hydrophiles et ralentit le transport de substances lipophiles **(Molitor, 2010)**. Pour assurer le passage des substances nutritives nécessaires, la cellule possède des porines qui sont des canaux de transport de nature protéique fortement sélective **(Nikaido, 2003)**. Ces derniers jouent un rôle dans l'échange du matériel nécessaire pour la survie des cellules, ainsi le travers de l'enveloppe bactérienne par certains antibiotiques comme les céphalosporines. L'entrée de certaines

bêtalactamines dans l'espace périplasmique est limitée par la perte ou la diminution de l'expression des porines. Si Cette diminution de la perméabilité associée à d'autres mécanismes, elle contribue à une résistance plus importante aux bêtalactamines.

Chez *Enterobacter aerogenes et Enterobacter cloacae complex* seulement quelques porines sont étudiées :

*Les porines OmpF (35), OmpC (36) qui réduisent le diamètre le leur port en additionnant des polypeptides ce qui limite la diffusion des substrats dont les fluoroquinolones et les bêta-lactamines **(Bornet et *al.*, 2004 ;Thiolas et *al.*, 2004;Pagès et *al.*, 2008)**.

*OmpA semble principalement jouer un rôle dans la stabilisation de l'enveloppe bactérienne **(Molitor ,2010)**.

*OmpX a été reliée à la virulence en promouvant l'adhérence bactérienne et l'entrée dans des cellules mammifères. Chez *Enterobacter aerogenes* la surexpression d'OmpX baisser la production d'OmpF et OmpC et changer donc le niveau de résistance aux bêtalactamines **(Gayet et *al.*, 2003;Dupont et *al.*, 2004)**.

Des études précédentes ont suggéré qu'une diminution de l'expression des gènes codant pour les porines cause la résistance de certaines souches d'*Enterobacter aerogenes* à l'imipénème.

Donc il existe Trois mécanismes de changement des porines qu'ont été rapportés en réponse aux antibiotiques : diminution de l'expression des porines, changement de type de porine exprimée et mutation des porines **(Pagès et *al.*, 2008)**.

Dans le cas des aminosides, l'imperméabilité résulte d'un mécanisme différent. Elle est due à des mutations modifiant le système de transport actif de ces molécules et provoquant une diminution d'activité de tous les aminosides. C'est alors une modification de la membrane cytoplasmique **(Molitor, 2010)**.

- **Mécanismes d'efflux**

À côté des porines déjà mentionnées, des pompes d'efflux contribuent à la diminution de la concentration intracellulaire des composés toxiques comme les médicaments ou les détergents et sont par conséquent impliquées dans le contrôle de la sensibilité aux antibiotiques.

Les systèmes d'efflux sont des complexes protéiques tripartites constituées d'une pompe transmembranaire, d'une protéine périplasmique de jonction (MFP : Membrane Fusion Protein) et d'une porine enchâssée dans la membrane externe (OMP : Outer Membrane Protein) **(Blair et Piddock, 2009)**.

Le système AcrAB-TolC *d'Enterobacter aerogenes* est la meilleure pompe d'efflux décrite, il est pensé que la protéine transporteur AcrB capture ses substrats de l'intérieur de la double couche phospholipidique de la membrane intérieure ou du cytoplasme et les transporte ensuite au moyen extracellulaire par la TolC, qui forme un canal dans la membrane extérieure **(Pradel et Pagès, 2002; Piddock, 2006)**.

L'une des premières étapes de la résistante bactérienne est L'augmentation de l'expression de gènes des pompes d'efflux, les transporteurs d'efflux confèrent un phénotype de résistance général en raison de leur poly-spécificité, cela peut conduire à l'acquisition des mécanismes supplémentaires de résistance aux antibiotiques comme la mutation de la cible ou la sécrétion des enzymes qui dégradent les antibiotiques, et renforcent aussi l'effet de ces mécanismes acquis **(Chevalier et *al.*, 2008; Li et *al.*, 2015)**.

4.2. Mécanisme de résistance des *Acinetobacter sp* aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques d'*A. baumannii* est la plus étudiée du fait de son implication clinique largement dominante par rapport aux autres espèces d'*Acinetobacter*, c'est pour ça nous avons choisi d'expliquer le mécanisme de résistance de cette espèce, sachant que cette dernière ne diffère pas trop des autres espèces de même genre.

4.2.1. Mécanismes enzymatiques

a. Les bêtalactamines

- **Les ß-lactamase classe A**

Différentes enzymes de cette classe ont été décrites chez *A.baumannii* et autres espèces telles que TEM- 1, TEM-2, CARB-4, CARB-5, CARB-14, SHV-1, SHV-56, SHV-71 et SCO-1 **(Bonnin et *al.*, 2013)**. Ces enzymes hydrolysent les pénicillines à spectre étroit, mais pas les céphalosporines et les carbapénèmes, et sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam **(Potron et *al.*, 2015)**.

- **Les ß-lactamases Classe B**

Ces enzymes sont dénommées Métallo-ß-Lactamases (MBL) et possèdent un ou deux atomes de zinc dans leur site actif. Elles hydrolysent les carbapénèmes et autres ß-lactames à l'exception de l'aztreonam, et ne sont pas inhibées par les inhibiteurs classiques des ß-lactamases tels que l'acide clavulanique et le tazobactam **(Nordmann et *al.*, 2012; Walsh et *al.*, 2005)**.

Ex : L'IMP, ou Imipénème Metallo-ß-Lactamase a été rapportée mondialement chez les bacilles à Gram négatif, y compris *A.baumannii* **(Roca *et al.*, 2012)**.

➢ **Les ß-lactamases de Classe C**

A.baumannii possède naturellement un gène qui code pour une céphalosporinase de type AmpC dont la quantité produite de cette enzyme n'a pas d'impact sur l'activité des céphalosporines à spectre élargi car le gène est souvent exprimé à faible niveau **(Bou et Martínez- Beltrán, 2000)**.

Ex : Les céphalosporinases de type ADC (Acinetobacter- Derived Cephalosporinase) qui ont été décrites chez les *Acinetobacter baumannii* ainsi que non baumannii y compris *A.pittii* et *A.nosocomialis*.

➢ **Les ß-lactamases Classe D**

Appelées oxacillinases, sont des enzymes capables d'hydrolyser aussi bien l'oxacilline et la cloxacilline que les benzylpénicillines, d'où le préfixe OXA. Elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ni les autres inhibiteurs. En outre, les CHDLs (carbapenem-hydrolysing classe D ß-lactamases) qui possèdent une activité carbapénémase **(Poirel et *al*., 2010)** sont les enzymes les plus répandues chez *Acinetobacter sp* **(Bonnin et *al*., 2013)**.

b. Les aminosides

Les principales classes des enzymes modificatrices décrites sont : aminoside acétyltransferase (AAC), aminoside nucleotidyltransférase (ANT) et aminoside phosphotransférase (APH) **(Jung et Park, 2015)**. Ces enzymes ont également été détectées chez d'autres espèces d'Acinetobacter comme *A.pittii*, *A.nosocomialis*, *A.haemolyticus* et *A.johnsonii* **(Espinal et *al*., 2011)**.

Ils sont inactivés par diverses enzymes produites par la bactérie : acétyl-transférases conférant la résistance à kanamycine, la tobramycine, dibékacine ; adényltransférases conférant la résistance à streptomycine et gentamicine ; phosphotransférases inactivant l'amikacine **(Lai et *al*., 1999)**.

c. Les quinolones

Les quinolones ont une bonne activité contre *Acinetobacter sp*. Cependant, la résistance à ces antibiotiques a augmenté rapidement **(Espinal et *al*., 2011)**. Chez *A.baumanii*, l'acquisition de la résistance à cette famille d'antibiotiques est principalement liée à des mutations chromosomiques au niveau d'une région appelée « quinolone résistance determining region (QRDR), notamment dans les gènes gyrA et ParC codant les topo-isomérases, l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV **(Potron et *al*., 2015; Roca et *al*., 2012)**.

4.2.2. Mécanismes non enzymatiques

Les mécanismes de résistance non enzymatiques chez *A.baumannii* sont moins fréquents mais font l'objet d'un nombre croissant de publications. Les mécanismes enzymatiques et non enzymatiques peuvent être associés dans une même souche **(ALAtrouni, 2017)**.

Parmi ces mécanismes, on cite :

a. Diminution de la perméabilité membranaire

Des modifications de la perméabilité membranaire chez *A.baumannii* peuvent jouer un rôle important dans la résistance, notamment aux carbapénèmes. Ainsi, la perte de la protéine de membrane externe (OMP) CarO (29 kDa), secondaire à l'interruption du gène *carO* par différentes séquences d'insertion (notamment IS*Aba825*) peut être à l'origine d'une résistance aux carbapénèmes **(Mussi et *al.*, 2005)**.

b. Les pompes à efflux

L'implication dans la multi-résistante aux antibiotiques des systèmes d'efflux d'origine naturels ou acquis est de plus en plus rapportée. Parmi les superfamilles de pompes à efflux, les systèmes RND (Resistance-Nodulation-Division) sont les plus fréquents chez *A. baumannii*.

Les pompes RND comme l'AdeABC ou l'AdeIJK présentent typiquement un large spectre de substrats incluant des antibiotiques, des antiseptiques ou des détergents **(Coyne et *al.*, 2010)**.

La surexpression de l'AdeABC est associée à une augmentation du niveau de résistance à l'imipénème et au méropénème, surtout lorsqu'elle est associée à l'expression des enzymes de type CHDL **(Lee et *al.*, 2010; Perez et *al.*, 2007)**. AdeIJK est une pompe spécifique d'*A.baumannii* qui contribue à la résistance intrinsèque de bas niveau aux ß-lactamines et aux autres antibiotiques **(Damier-Piolle et *al.*, 2008)**.

c. Modification des Protéines Liant les Pénicillines (PLP)

A ce jour, plusieurs PLP ont été décrites chez *A.baumannii*. La résistance aux carbapénèmes serait due à une baisse de l'affinité vis-à-vis des PLPs par des mutations qui confèrent une diminution de l'expression de PLP2 et PLP6b **(Cayô et *al.*, 2011; Perez et *al.*, 2007)**.

Matériel

&

Méthodes

I. Lieu et période d'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée sur une période allant du 01 au 18 Mars 2020. Les prélèvements ont été réalisés au niveau de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Médéa à partir de divers services à savoir : Médecine interne (femme et homme), Chirurgie (homme), post opératoire et le service de Néphrologie et dialyse.

Ces prélèvements ont été rapidement transportés dans une glacière au sein du laboratoire de L'EPSP (Etablissement Public de Santé de Proximité) de Médéa.

II. Type d'étude

Il s'agit d'un travail de paillasse des échantillons qui ont été prélevés de l'hôpital avec une étude descriptive des résultats des antibiogrammes enregistrés dans les archives 2019 -2020 de laboratoire EPSP de Médéa.

III. Matériel biologique

Les souches ont été isolées de différents prélèvements : Pus, Urines, à partir de l'environnement : des surfaces sèches (tables de soins, lits, plateau métallique, paillasses, draps, bords du lit, poignées de portes et de fenêtres, tables de lit médical), des surfaces humides (lavabos, siphons) par écouvillonnage et à partir de l'air.

Un total de 49 prélèvements ont été réalisés au niveau des différents services dont 25 à partir des patients (pus, urines), 21 de l'environnement et 3 de l'air (**Tableau 4)**.

Tableau 4. Les différents prélèvements réalisés.

Patients		**Environnement**	**L'air**	**Total**
Urine	**Pus**			
18	07	21	03	49

IV. Isolement et identification des souches :

1. Prélèvements des échantillons

a. À partir d'urines (ECBU)

Les urines sont recueillies de préférence le matin dans des tubes stériles **(Denis, 2016)**, Puis un ensemencement par étalement a été réalisé sur les géloses sélectives (Hektoen, EMB, Mac Conkey) **(Annexe 1)** et incubé à 37°C pendant 24 h.

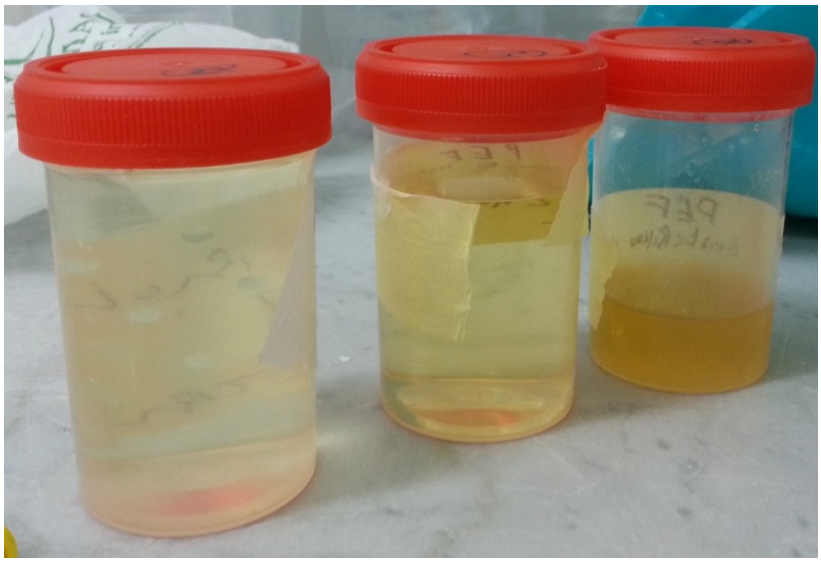


Figure 6. Des échantillons urinaires **(prise personnelle, 2020).**

b. À partir de pus

Pour les prélèvements superficiels (prélèvements de plaies, brûlures, ulcérations, escarres, lésions cutanées, etc.), un nettoyage et une antisepsie de la peau, ou de la partie superficielle, seront nécessaires avant prélèvement. Il est aussi possible d'injecter du sérum physiologique en faible quantité dans la lésion et de ré-aspirer ensuite tout ce qui est possible **(Cattoir et *al*., 2016)** .

L'ensemencement a été réalisé par strie sur les géloses précédemment mentionnés et incubé dans les mêmes conditions.

c. Prélèvement de surface par écouvillonnage

Les écouvillons doivent être humidifié (eau distillée stérile, sérum physiologique) puis on passe l'écouvillon en stries parallèles rapprochées, en faisant tourner légèrement l'écouvillon mouillé. On répète l'échantillonnage de la même zone par des stries perpendiculaires aux premières et noter les conditions de prélèvements **(Quesnel, 1998)**.

L'ensemencement des écouvillons se fait directement sur milieux choisis (Hektoen, Mac Conkey , EMB) et l'incubation à 37°C pendant 24 h.

d. Prélèvement à partir de l'air

C'est la technique la plus simple pour mettre en évidence les micro-organismes vivant dans l'air qui nous entoure et que nous inhalons.

Une boîte de Pétri, remplie d'un milieu gélosé nutritif est laissée ouverte pendant 12 h. Elle est placée ensuite à incuber plusieurs jours à l'étuve. Seuls les germes vivants peuvent être isolés et ensemencés dans les milieux sélectifs. **(Echantillonnage et analyses microbiologiques, s. d.)**

2. Purification

À partir de l'aspect des colonies suspects des souches d'intérèts , des repiquages sont réalisé successivement sur les mèmes milieux de culture ou sur GN pour obtenir des cultures pures **(Boudjemaa, 2015).**

3. Identification

Après la purification et à partir des colonies bien isolées, l'identification préliminaire des souches a été orientée par les résultats de la coloration de Gram **(Annexe 3)**, catalase, oxydase, et par les caractères culturaux des souches observés sur les milieux utilisés.

- ✓ **Recherche de l'oxydase**

Le disque de papier filtre imprégné de réactif : l'oxalate de N-dimethyl paraphenylène diamine, qui est incolore sous forme réduite et rouge-violet sous forme oxydée a été utilisé. Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « Ox » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque **(Delarras, 2007).**

- ✓ **Recherche de la catalase**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries en H_2O et ½ O_2 **(Delarras, 2007).**

$$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + ½\ O_2$$

On prend une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) à 10 volumes qu'on dépose sur une lame avec une colonie bien distincte de culture jeune de 24 h, le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase. **(Garnier et Denis, 2007)**

- ✓ **Production de la B-galactosidase (Disques ONPG)**

Le test est pratiqué en réalisant une suspension dense de la bactérie testée dans l'eau distillée puis à l'aide d'une pince flambée et refroidie nous avons ajouté un disque imprégné d'ONPG et nous avons mis le tube dans l'étuve pendant 24 h.

La présence d'une bêta-galactosidase se traduit par le virage de couleur en jaune (la libération de l'orthophényle soluble) **(Delarras, 2007)**.

$$\underset{\text{Substrat}}{\textbf{ONPG}} \xrightarrow{\textbf{β-gal}} \underset{\text{produit}}{\textbf{ONP + galactose}}$$

Incolore — jaune

En plus de tests que nous avons réalisés précédemment, l'identification repose ainsi sur des galeries biochimiques.

- ✓ **Galerie biochimique classique**

Elle comporte plusieurs tests résumés dans le **tableau 05** suivant.

Tableau 5. Techniques d'identification biochimiques des bacilles gram négatif **(Boukerouaz et Benmehidi, 2017).**

Milieux de culture	Test recherché	ensemencement	incubation	Réactif à ajouter	Résultats positifs	Résultats négatifs
Citrate de simmons	Utilisation de citrate de sodium comme source de carbone	Stries longitudinale de la pente	37 ° C pendant 24h		Bleu	Vert
Clark et Lubs	Production des acides organiques et acides mixtes	Quelques gouttes de suspension bactériennes	37 ° C pendant 24h	VPI et VPII	coloration rouge du milieu	incolore
Urée-indole	Hydrolyse de l'urée	Quelques gouttes de suspension bactériennes	37 ° C pendant 24h		Rouge, rose à violet	Jaune
	production d'indole à partir de tryptophane			Kovacs	Formation d'un anneau rouge à la surface	Absence d'anneau rouge
	La désamination du tryptophane par le tryptophane désaminase			TDA	Rouge	orange

- ✓ **Galerie API 20E (bio Mérieux, France) :**

1. Principe de la technique :

Le système API 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux. La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, dont 8 tests biochimiques conventionnels et 12 tests d'assimilation des sucres. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs**. (BioMérieux API 20E manual. 2010)**.

2. Méthode de réalisation (BioMérieux API 20E manual. 2010):

2.1. Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture fraîche sur milieu gélosé, on prélève 4 à 5 colonies bien isolées et on met en suspension dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, puis on homogénéise soigneusement les bactéries dans le milieu.

2.2. Inoculation de la galerie :

Le fond et le couvercle d'une boite d'incubation sont réunis, ensuite environ 5 ml d'eau distillée stérile sont répartis dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

On introduit la suspension bactérienne dans les microtubes de la galerie à l'aide de la même pipette :

-Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.

-Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).

-Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H2S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

La boîte est refermée et incubée à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures, Après on ajouter 1 goutte de réactif TDA dans la cupule du test TDA, 1 goutte de réactif Kovacs sur le test IND et 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2 sur le test VP (attendre au minimum 10 minutes).

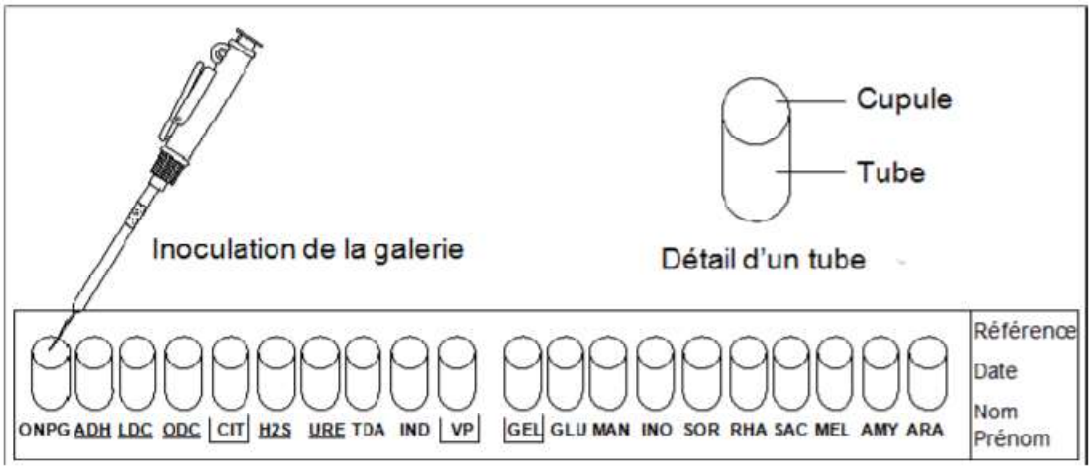


Figure 7. Remplissage de la galerie API 20E **(Koridak et Bekkouche, 2019)**.

2.3 .Lecture et interprétation des résultats

Après l'incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (**Annexe 4**). L'identification biochimique peut se faire également par les galeries API 20NE pour les bactéries non fermentaires (BNF) comme les *Acinetobacter*. (**BioMérieux API 20E manual. 2010)**

V. Conservation des souches

À partir d'une suspension microbienne ou d'un prélèvement d'une colonie à l'aide d'une anse de platine, on ensemence un volume de bouillon nutritif et on l'incube à 37° C pendant 24 h. Après incubation, prélever un volume (en fonction des besoins, par exemple 10 ml pour dix cryotubes) de la culture et ajouter un volume de glycérol à 30 % autoclavé. Ensuite homogénéiser par agitation douce manuelle et répartir en tubes d'Eppendorf (1,5 ml de suspension maximum pour un contenant de 2 ml), puis les stocker dans le congélateur (– 20 °C) **(Denis et *al.*, 2007)**.

VI. L'antibiogramme

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie **(CASFM, 2008).**

- ✓ **Technique**

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, on décharge bien l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile ou l'eau distillée stérile puis on homogénéise la suspension bactérienne au vortex, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF dont La suspension bactérienne à 0,5 MF doit être diluée au 1/10ème. l'écouvillon déchargé de l'inoculum est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche de

haut en bas, en stries serrées en répétant l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même puis l'ensemencement est fini par son passage sur la périphérie de la gélose.

A l'aide de pinces bactériologiques stériles on prend chaque disque d'antibiotique et on le presse sur la gélose, l'incubation est de 18 à 24 heures à 37°C. La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée, figure dans **(Annexe 5)**.

Les antibiotiques utilisés sont : les béta lactamines (Ampicilline, Amoxicilline, Amoxicilline +Acide Clavulanique, Cefalotine, Cefalexine, Cefotaxime, Céftazidine, Cefazoline), les aminosides (Amikacine, gentamycine, streptomycine), les fluoriquinolones (acide nalidixique, Ciprofloxacine, Oflaxacine) et autres antibiotiques (Chloramphenicol, Tremethoprime+Sulfamides, Fosfomycine, colistine).

- ✓ **Lecture**

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision et comparés avec des valeurs critiques, pour finir on Classe les bactéries dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistance.

Résultats

&

Discussion

Suite à une période étendu de 15 jours depuis1 mars 2020, un nombre de 49 prélèvements ont étés réalisés à partir de différents services au niveau de l'hôpital Mohamed Boudhiaf de Médéa. Suite aux conditions sanitaires du Covid-19 , nous n'avons pas pu exploiter le sujet et cerner la problématique établie au début ,donc nous étions obligé de faire une étude statistique concernant l'étude de la résistance aux antibiotiques .

I. Identification des bactéries à Gram négatifs

1. Caractères phénotypiques des souches Gram négatif isolées

a. Aspect macroscopique

La première étape du diagnostic bactérien et du biotypage d'un isolat est la description macroscopique des colonies isolées (parfois cette seule étude permet de connaître le germe isolé car les colonies sont typiques) **(Madani, 2019).**

- **Sur milieu Hektoen**

Sur le milieu Hektoen, les colonies des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* qui fermentent l'un ou les trois sucres présent dans le milieu (lactose, saccharose, salicine) forment des colonies de couleur "saumon", les autres donnant des colonies vertes. Si les bactéries sont des producteurs de sulfure d'hydrogène, elles donnent avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir.

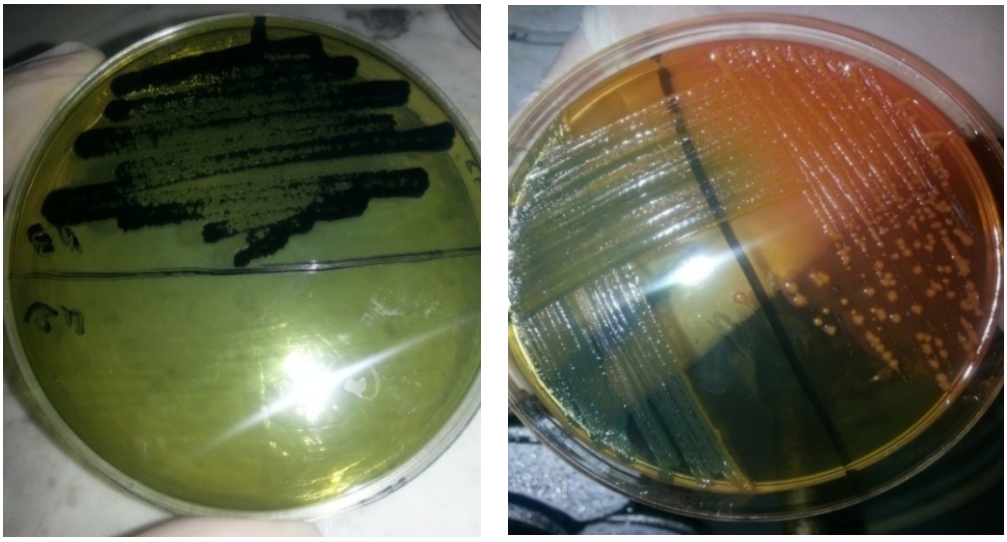


Figure 08. Aspect morphologique des colonies d'entérobactéries sur le milieu Hektoen **(prise personnelle, 2020).**

- **Sur milieux Mac Conkey**

Sur ce milieu les bactéries qui fermentent le lactose, forment des colonies roses ou rouges tandis que les bactéries qui ne fermentent pas le lactose apparaissent incolores.

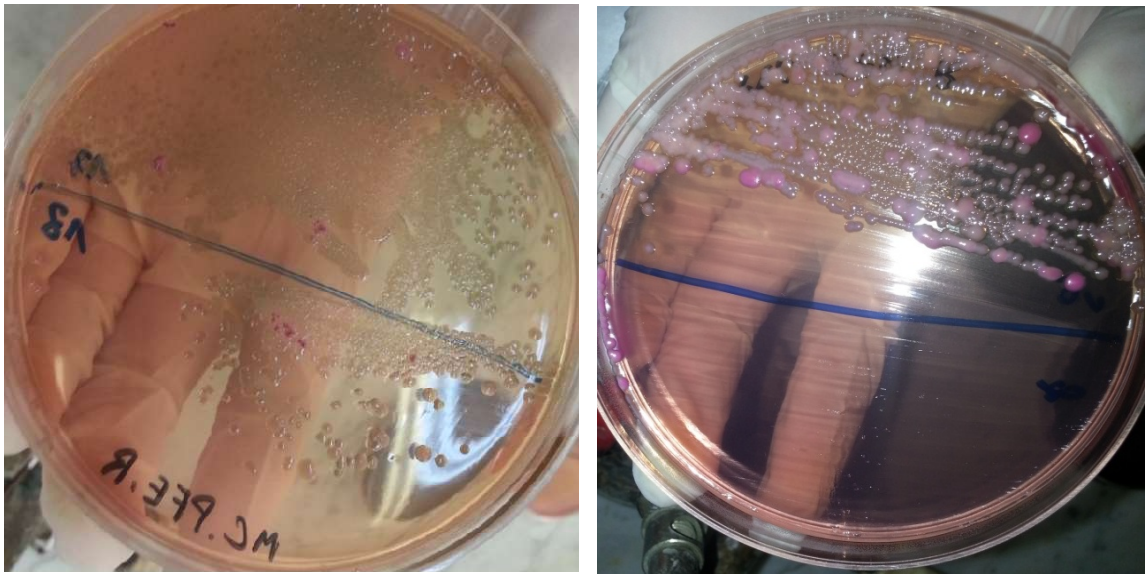


Figure 09. Aspect morphologique des colonies d'entérobactéries sur le milieu Mac Conkey **(prise personnelle, 2020).**

❖ **Sur milieu EMB**

La dégradation du lactose se traduit par une coloration rose ou violette des colonies, dans le cas contraire, les colonies sont incolores.

Les petites colonies plates, violet très foncé, avec très souvent un reflet métallique sont probablement *Escherichia coli*. En cas des grosses colonies, convexes, rosées avec un centre violet (aspect en oeil de poisson), muqueuses : colonies de Klebsiella (parfois Enterobacter probable). Les autres bacilles à Gram (-) apparaissent en colonies grises.

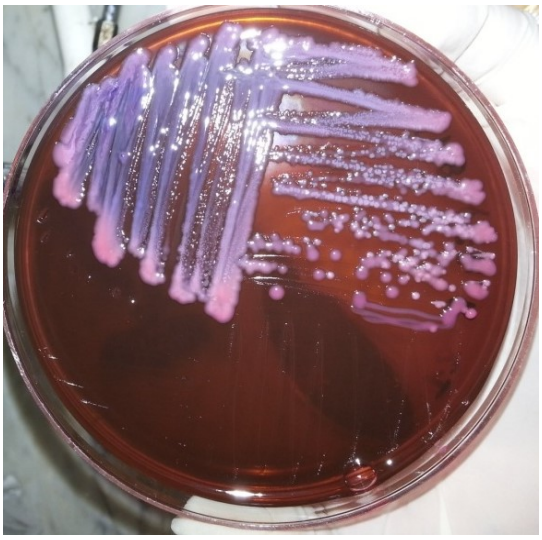


Figure 10. Aspect des colonies d'*E.coli* **(prise personnelle, 2020)**.

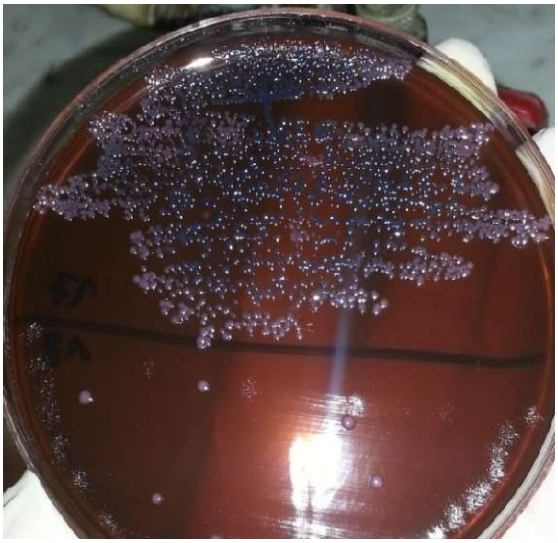


Figure 11. Aspect des colonies de *klebseilla sp* **(prise personnelle, 2020)**.

b. Aspect microscopique (coloration de gram)

Après la réalisation de la coloration de gram, on observe sous microscope optique «G×100» des bacilles colorés en rose regroupé en amas ou isolé. Donc les isolats sont à coloration Gram négative.

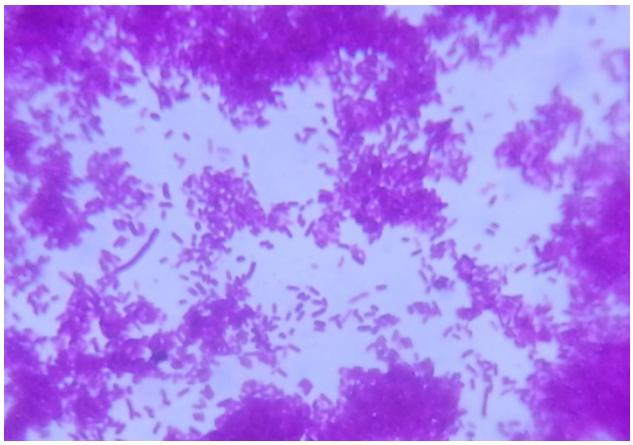


Figure 12. Observation microscopique après coloration de gram de *Klebseilla oxytoca* à partir de milieu Hektoen **(prise personnelle, 2020)**.

2. Identification biochimique

❖ **Test de catalase**

Le résultat de ce test se traduit par le dégagement des bulles de gaz (production d'O2 provenant de la dégradation d'H_2O_2) **(Delarras, 2007)**.



Figure 13. Le résultat positif de test catalase **(Savadogo et Boubkeir, 2016).**

❖ **Test oxydase**

Le résultat positif se traduit par une coloration violette sur le disque, l'absence de la coloration violette révèle un résultat négatif sur le disque d'oxydase. Les souches isolées sont oxydase négative **(Delarras ,2007)**.

❖ **Test ONPG**

Après l'incubation, le résultat est positive s'il ya un virage de couleur en jaune, dans le cas d'absence de couleur le résultat est négatif **(Denis et *al*., 2016)**.



Figure 14. Test ONPG positif **(prise personnelle, 2020)**



Figure 15. Test ONPG négatif **(prise personnelle, 2020)**.

❖ **Galerie classique**

✓ **Recherche de l'utilisation de citrate**

L'utilisation du citrate se traduit par un virage au bleu du milieu. Certaines souches sont citrate (+), d'autres par contre sont citrate (-) donc pas d'utilisation du citrate (coloration verte) **(Denis et *al*., 2016)**.



Figure 16. Résultat négatif de citrate **(Prise personnelle, 2020)**.



Figure 17. Résultat négatif de citrate **(Prise personnelle, 2020)**.

✓ **Production de VP sur milieu Clark et Lubs**

Après l'ajout des réactifs VP I et VP II. Une coloration rouge témoigne d'un VP+ et la réaction négative est révélée par l'absence de la coloration rouge **(Denis et *al*., 2016)**.

✓ **Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase et de la TDA**

- La présence de l'indole est révélée après ajout du réactif de Kovacs par L'apparition d'un anneau rouge à la surface de milieu **(Denis et *al*., 2016)**.
- La TDA est mise en évidence après ajout du réactif de la TDA. Une coloration rouge brun témoigne de la désamination du tryptophane **(Denis et *al*., 2016)**.

- La poduction de l'uréase se traduit par virage au rose ou rouge du milieu urée-indole **(Denis et *al.*, 2016)**.



Figure 18. Test uréase positif **(Prise personnelle ,2020).**



Figure 19. Test uréase négatif **(Prise personnelle ,2020).**

❖ **Galerie Api 20E**

La galerie API 20 E, nous a permis d'affiner nos résultats dans l'identification des souches, et le catalogue analytique nous a permis de faire l'identification de l'espèce.

Nous avons réalisé les galeries API 20E des 3 souches seulement, nous avons trouvé ces 2 espèces respectivement 2 *Escherichia coli* et 1 *Klebseilla oxitoca.*

Tableau 06. Résultats de la galerie API 20E d'*Escherichia coli*

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-

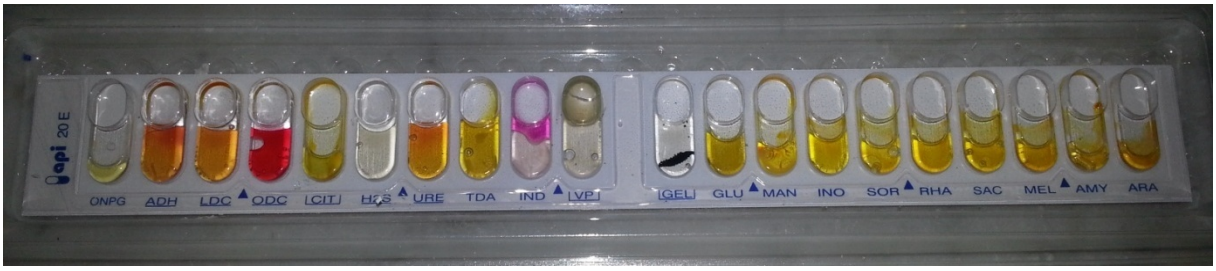


Figure 20. Profil biochimique d'*Escherichia coli* **(Prise personnelle, 2020)**

Tableau 07. Résultats de la galerie API 20E de *klebseilla oxytoca*

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+



Figure 21. Profil biochimique de *klebseilla oxytoca* **(prise personnelle, 2020)**

3. Répartition des souches selon les prélèvements

Sur l'ensemble de 49 échantillons, 8 prélèvements étaient positifs ce qui représentaient (16 %), les 41 prélèvements restants étaient négatifs avec un pourcentage de 84%.

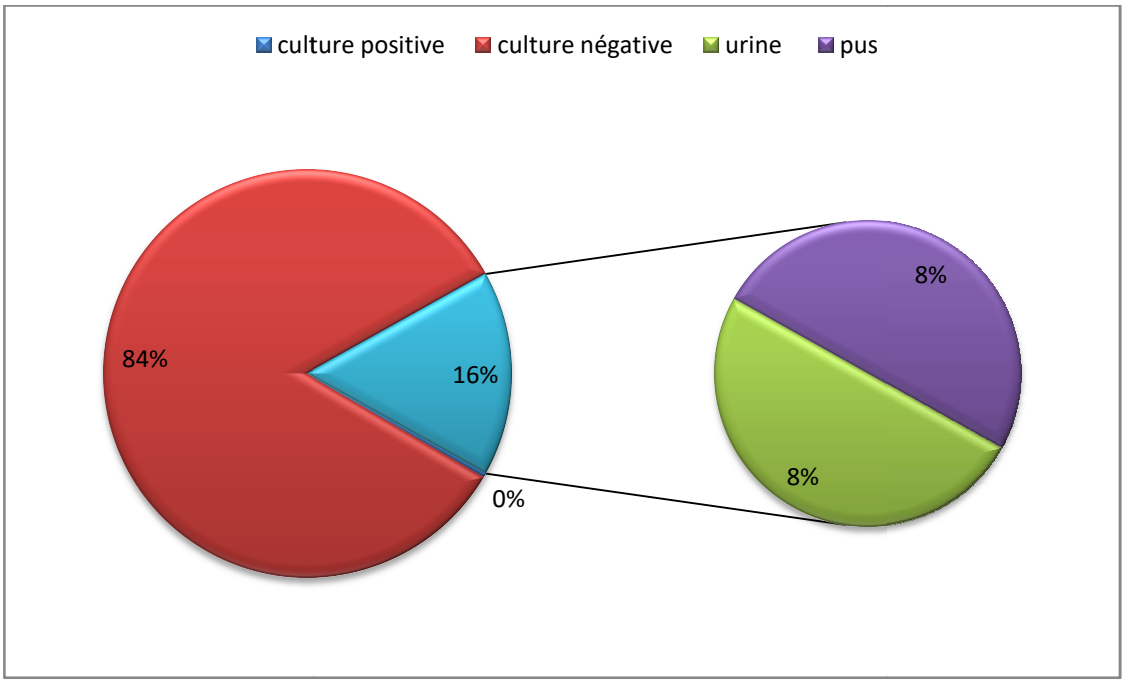


Figure 22. Répartition des souches selon les prélèvements

4. Répartition des souches selon l'espèce et la nature de prélèvement

Au total, 8 souches à Gram négatif ont été isolées et identifiées à partir de 4 prélèvements urinaires et 4 prélèvements de pus. Nous avons identifié 3 souches d'*E.coli,* une souche de *Proteus sp* ,3 souche de *Klebseilla sp* et une autre bacille à Gram négatif. **(Figure 23)**

La répartition des souches selon la nature de prélèvements est représentée dans **(Figure 24).**

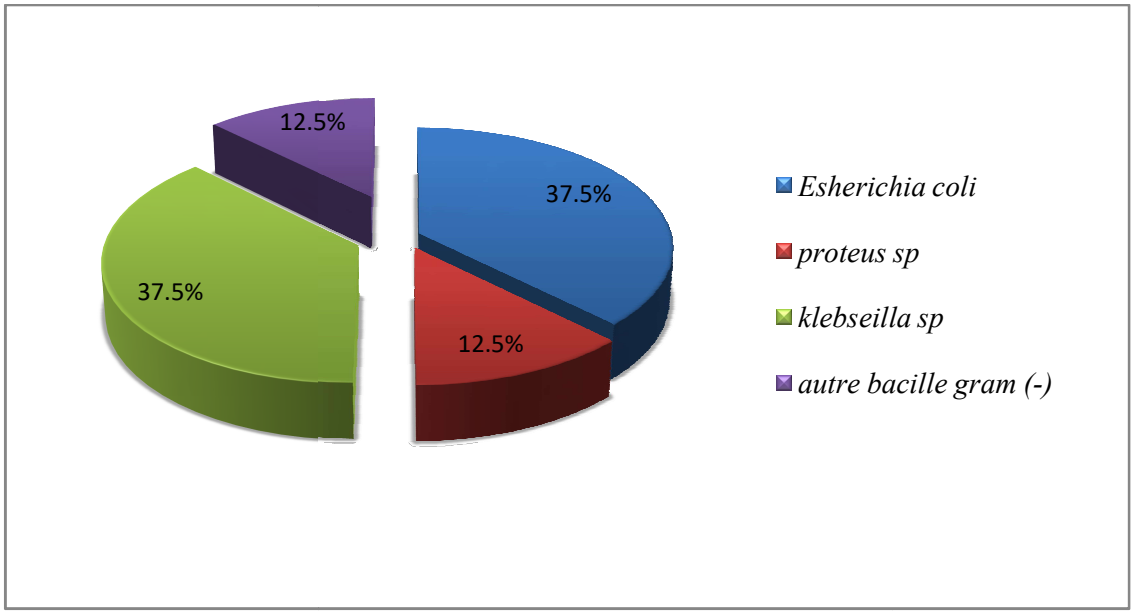


Figure 23. Répartition des souches isolées par espèce.

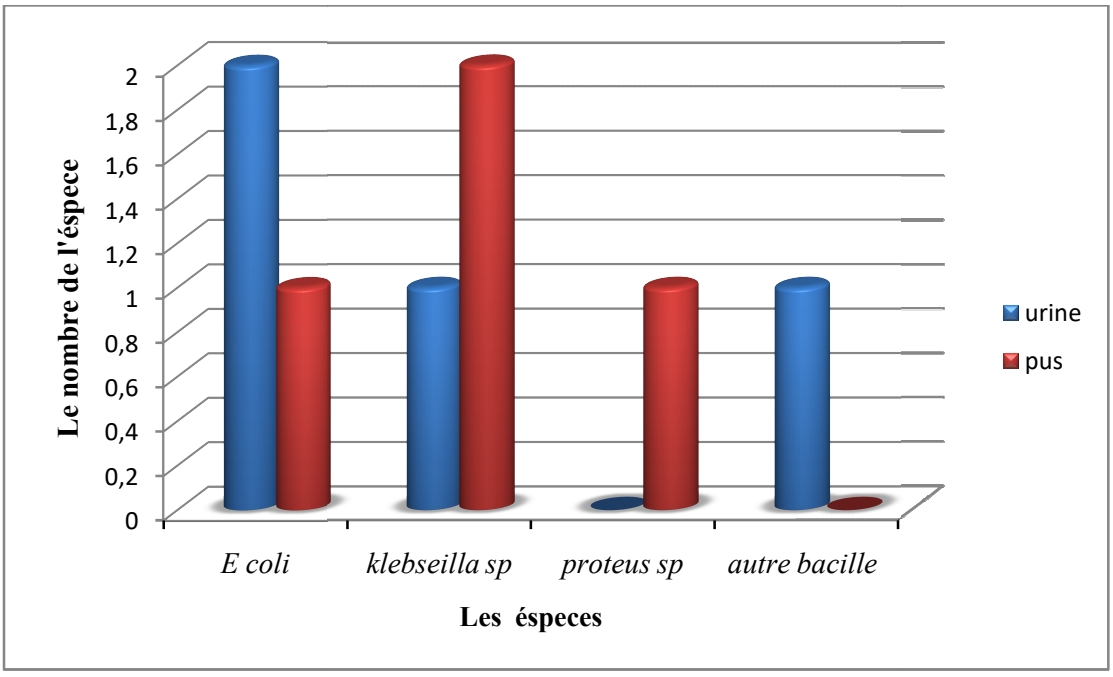


Figure 24. Répartition des espèces selon la nature de prélèvement.

5. Répartition des souches selon le sexe et le service

Parmi les 8 isolats ,4 provenaient des sujets de sexe masculin soit 50% des cas, alors que celle provenant de sexe féminin étaient de 4 isolats avec un taux de 50%.

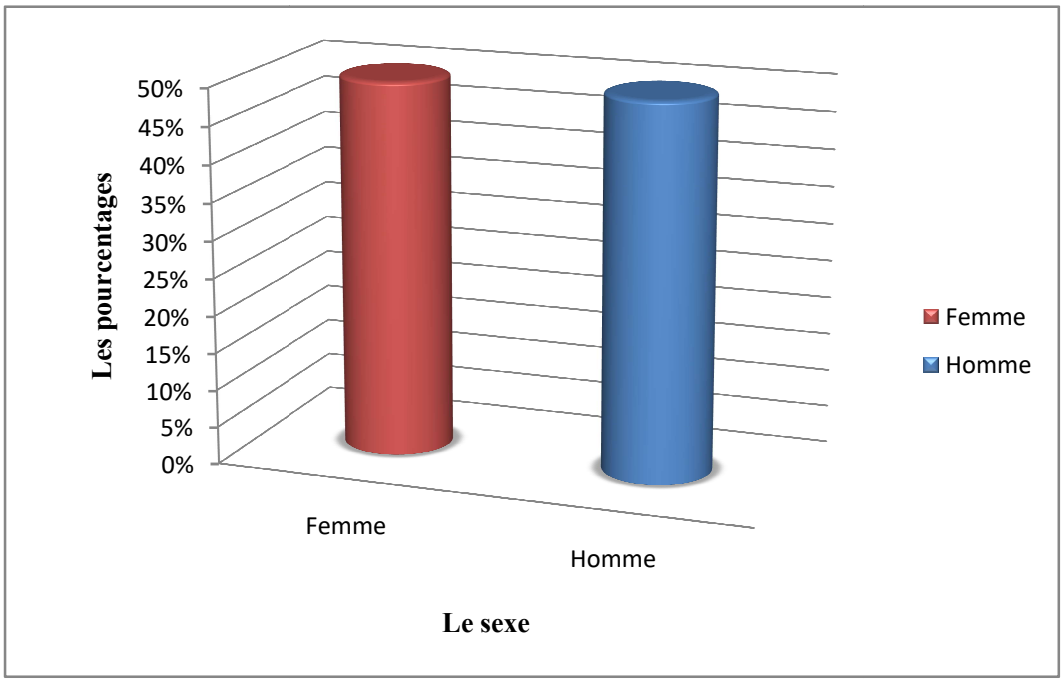


Figure 25. Répartition des souches selon le sexe

Les services de médecine interne homme et néphrologie occupent la première place avec un taux de 37%, suivi du service de médecine interne femme et de chirurgie homme avec un taux de 12%.

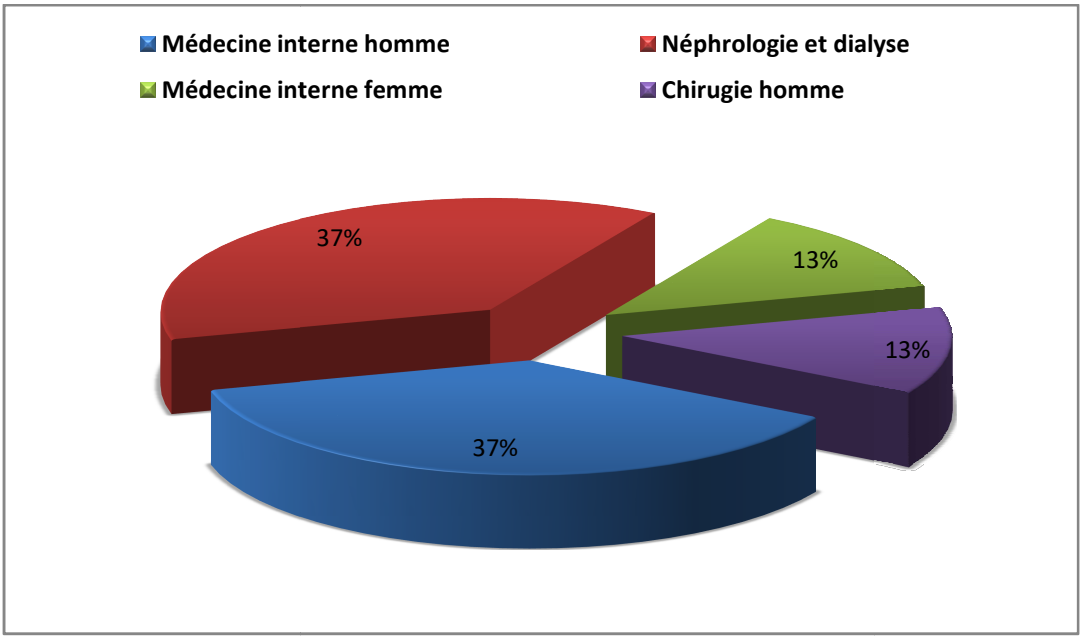


Figure 26. Répartition des souches isolées selon le service.

II. Etude de la résistance aux antibiotiques

Dans cette étude nous avons pris les résultats d'antibiogramme des souches d'*Enterobacter sp* enregistrés dans les archives du laboratoire d'EPSP de Médéa depuis janvier 2019 jusqu'à juillet 2020, vu que nous n'avons pas pu réaliser l'antibiogramme des isolats d'intérêt.

1. Répartition des souches selon le sexe et l'éspèce

Au total 37 isolats *d'Enterobacter sp* ont été obtenu à partir de différents patients, 30 parmi eux sont de sexe féminin et 7 de sexe masculin, dont 26 sont des *Enterobacter cloacae*, 9 *Enterobacter sp*, 1 *Enterobacter gergoviae* et 1 *Enterobacter aerogenes*.

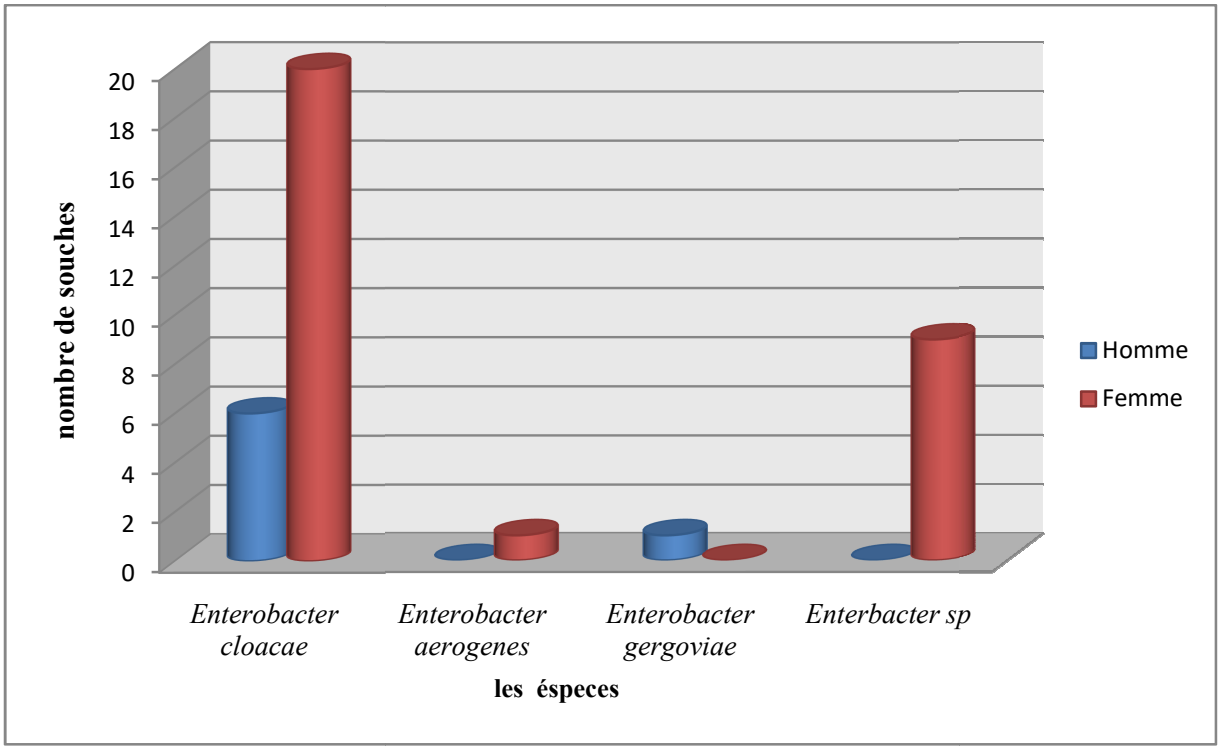


Figure 27. Répartition des souches d'*Enterobacter* selon le sexe et les espèces.

2. Profil de résistance des *Enterobacter sp*

L'analyse des résultats des antibiogrammes validés par le laboratoire EPSP de Médéa, nous a permis d'introduire ces données dans l'histogramme suivant .

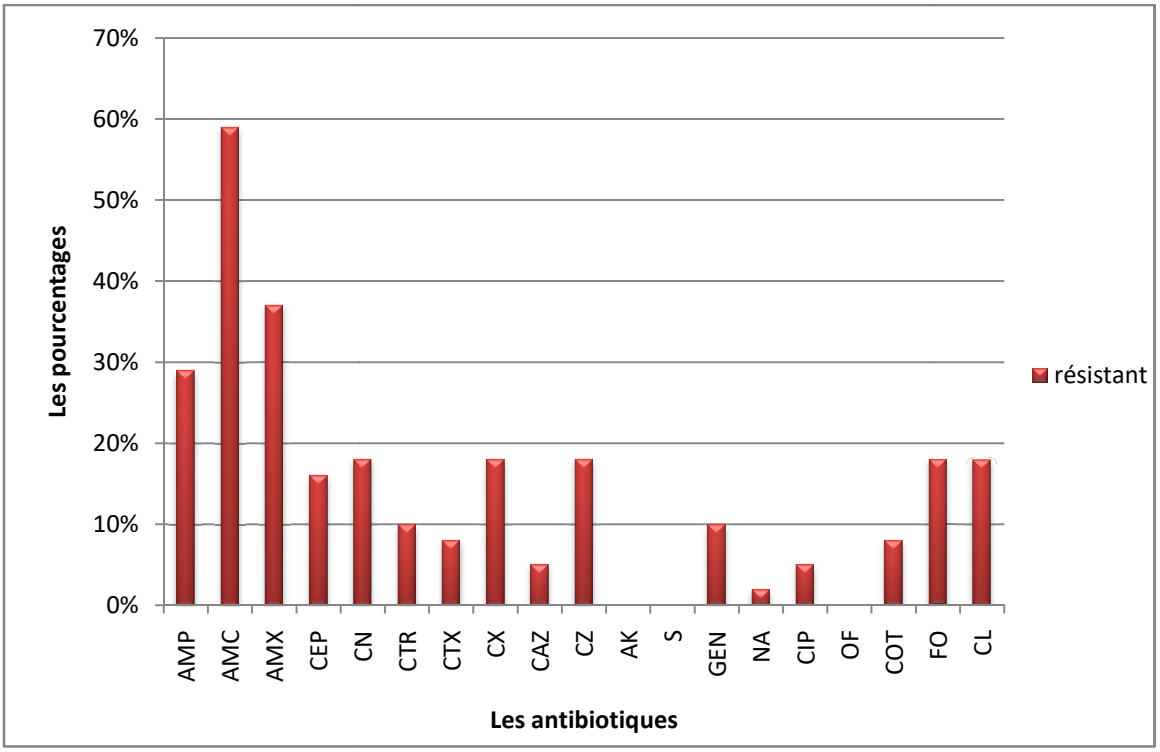


Figure 28. Taux de la résistance des *Enterobacter sp* aux antibiotiques.

D'après l'histogramme, les souches d'*Enterobacter sp,* présentent une résistance assez importante à certains antibiotiques. Nous constatons que les béta lactamines ont un taux de résistance le plus élevé avec un pourcentage de 19% (AMC 59%, AMX 37%, AMP 29%, CX 18%, CN 18%, CEP 16%, CTR 10%, CTX 8%, CAZ 5%) par contre les aminosides et les fluoroquinolonnes représentent respectivement des taux de résistance les plus faibles de 3% (GEN 10%) et 2% (CIP 5% et NA 2%).

Concernant les autres antibiotiques, nous constatons une résistance variable de 8% pour Tremethoprime+sulfamides (COT), 18% pour colistine (CL) et les fosfomycine (FO).

Les bacilles à Gram négatif sont des agents pathogènes opportunistes responsables essentiellement d'infections sévères non seulement en milieu hospitalier mais aussi en milieu communautaire **(McGowan, 2006)**.

Au cours de la période de l'étude, nous avons isolé 8 bacilles à Gram négatif à partir de différents services de l'hôpital Mohamed Boudhiaf de Médéa : médecine interne homme et femme, néphrologie et dialyse et chirurgie homme.

Selon les prélèvements, toutes les isolats obtenus à partir des prélèvements urinaires et de pus sont de fréquence identique 50%, par contre nous n'avons isolé aucune souche d'intérêt a partir des prélèvements d'environnement hospitalier et l'air. On estime que ces résultats se différencient de ceux de **Madi et Djema** du fait qu'elles ont trouvés que le pourcentage des souches isolés à partir des urines est le plus élevé avec un taux de 40% suivi par 35% des souches isolées des pus , 21% des souche isolées dans des prélèvements d'environnement hospitalier et 4% des souche isolées d′hémoculture **(Madi et Djema,2019)**, et celui de **Boukhatem en 2013** qui a isolé un pourcentage 60% des souches à partir de 20 prélèvements de l'environnement et 40% des souches à partir des patients. On admet que cette différence des résultats obtenus dans notre travail et celui des autres études est due essentiellement à la différence de nombre des prélèvements, de leurs variétés et de leurs natures.

Par ailleurs, dans l'ensemble des souches isolées, *Escherichia coli* et *klebsiella sp* sont les espèces les plus fréquentes de pourcentage 37.5 % pour chacune, suivi par *proteus sp* et un autre bacille à Gram négatif avec une fréquence de 12.5 %. Ce résultat concorde avec celui obtenu au sein du laboratoire de microbiologie à l'hôpital de Médéa par **Boubakeur et Bachi en 2018 ,** dont les pourcentages d'isolement des *Escherichia coli* et *klebsiella sp* sont les plus élevées et égales à 22 % .En revanche il existe d'autres souches isolées qui sont différents à nos résultats et représentés par *staphylocoque aureus* , *pseudomonas aeruginosa* , *Enterobacter sp* et *Acinetobacter baumannii* avec des fréquences décroissantes , cet écart obtenu est expliqué par la différence entre la duré de notre stage pratique (15 jours) et celle de **Boubakeur et Bachi** (4 mois).

De récentes données américaines indiquent qu'*E. Coli* est étiologiquement le plus commun des micro-organismes Gram négatifs isolés lors des infections urinaires nosocomiales **(Hidron et *al*., 2008)**, ce qui est similaire à nos résultats ou 66 % des *Escherichia coli* isolés sont à partir des prélèvements urinaires, cela est exprimé par la durée de séjour

d'hospitalisation et l'état des patients : opérés, subit une hémodialyse ou lors de la mise en place de sonde, ce qui provoque l'augmentation de risque d'acquisition d'une infection à bactéries multi résistantes.

L'analyse des patients en fonction de sexe nous a permis de constater que le nombre des entérobactéries est identique chez la population féminine et masculine, contrairement à ce qui rapporté par **Madi et Djema en 2019,** qui ont trouvés une prédominance des souches isolés chez le sexe féminin présentée par un taux de 53%.

Les souches isolées occupent une proportion de 37% dans les services de médecine interne homme, néphrologie et dialyse et un taux de 13% dans chirurgie homme et médecine interne femme . Ces résultats sont en divergence par rapport à des études maghrébines qui sont trouvées que la répartition des souches isolées est importante dans le service de réanimation avec un taux de 45% , suivi des services de chirurgie (19%), puis de médecine (14%) **(El Brahimi 2013)** .Nous avons constaté que les services de médecine interne homme et néphrologie et dialyse sont les services les plus touchés cela peut être liées à la défaillance de système immunitaire surtout chez les patients ayant subit une insuffisance rénal ou bien un déficit de l'hygiène hospitalière par un manque au niveau de l'entretien du matériel et équipement.

La résistance aux antibiotiques constitue un problème majeur et un facteur essentiel pour la sélection des bactéries multi-résistantes à de nombreux ATBs, elle résulte d'interactions complexes entre la bactérie et son environnement et liée essentiellement à l'usage excessif des antibiotiques contribuant ainsi à l'émergence et à la diffusion de certains bacilles à Gram négatif en particulier les souches d'entérobactéries **(Boudjemaa, 2015)**.Parmi ces dernières on a pris en considération l'*Enterobacter sp* comme le genre type dans notre mémoire.

Concernant l'étude d'antibiorésistance des *Enterobacter sp* , nous avons réalisé une étude statistique à partir des données enregistrées dans les archives de laboratoire de l'EPSP de Médéa , ainsi nous avons trouvé que parmi les *Enterobacter sp*, l'espèce la plus fréquente isolée est *Enterobacter cloacae* de fréquence (26/37),dont la majorité est de sexe féminin ce qui concorde avec l'étude de **Khenouchi en 2016** qui a trouvé la prédominance d' *Enterobacter cloacae* avec une fréquence de (63/77) dans l'est Algérien et le laboratoire de microbiologie du CHU de la Timone à Marseille chez les femmes .

Les niveaux des résistances bactériennes varient d'un pays à l'autre et d'une année à l'autre. Aussi, la connaissance de la situation locale et de son évolution sont nécessaires pour le choix de l'antibiothérapie de première intention **(El Bakkouri et *al*., 2009)**. En effet L'analyse du profil des *Enterobacter sp* montre des taux de résistances remarquables aux β -lactamines : l'amoxicilline et à l'acide clavulanique (59%), l'amoxicilline (37%), l'ampiciline (29%), CX 18%, CN 18%, CEP 16%, CTR 10%, CTX 8% , CAZ 5%, AMX 5%, ces taux sont inferieurs à ceux rapportés par **Bouzeraa et Berrihil** à savoir un taux élevé de résistance à l'amoxicilline et à l'acide clavulanique (75 %), du l'amoxicilline (100%), du l'ampiciline (100%) et du Céfotaxime (95,65%) **(Bouzeraa et Berrihil 2018)**.

Les bêta lactamines sont la classe qui occupent une place importante dans l'arsenal thérapeutique ce qui impose l'émergence de l'antibiorésistance de cette famille. La pluparts des études ont montré une résistance partiellement total pour les *Enterobacter sp*, comme les travaux de la faculté de médecine **(Pierre et Marie Curie**) en 2002 qui approuvent une résistance naturelle à l'amoxicilline par production d'une β-lactamase chromosomique de classe C inductible *AmpC* **(Djohar, 2013)**.

En France, certaines souches d'*Enterobacter sp* initialement sensibles au céfotaxime peuvent devenir résistantes aux C3G (Céftriaxone) au cours d'un traitement par une de ces céphalosporines. Il s'agit soit de l'induction d'une céphalosporinase chromosomique, soit de la sélection d'un mutant déprimé produisant à haut niveau cette céphalosporinase **(Avril et *al*., 2000)** . De manière générale**,** La production des BLSE est le mécanisme major de la résistance du genre *Enterobacter sp* aux bêta-lactamines **(Khenouchi, 2016)**.

Pour les aminosides le seul antibiotique exprimant une résistance est le gentamycine avec un taux correspond à 10% qui est inferieur par rapport au résultat obtenu par **Souna en 2011** qui a trouvé 53.8%. Les amikacines et les streptomycines restent les antibiotiques les plus actifs contre les souches d'*Enterobacter sp* avec une sensibilité totale dans nos résultats qui sont tout à fait semblables aux résultats de l'étude précédente.

D'autre part les quinolones montrent une résistance très faible de 5% et 2% pour l'acide nalidixique et ciprofloxacine respectivement, ce résultat montre une différence assez importante en comparant avec celui d'**El Brahmi** qui a détecté un pourcentage de 87.5% pour ciprofloxacine **(El Brahmi, 2013).**

L'étude réalisé par **Khenouchi** a permet d'exprimer la résistance aux aminoglycosides par la présence de gène *armA* 16S rRNA methyltransférase chez l'*Enterobacter sp* qui a été détecté pour la première fois en Algérie et en Afrique. Il existe d'autres méthylases qui inactivent les aminosides. Concernant les fluoroquinolones la résistance enzymatique a été associée a la présence de mutation aux niveau des plasmides chez 33.3% des souches isolées à l'est Algérien et chez 2% des souches isolées à Marseille, France .

Nous avons noté que les taux des résistances des autres classes des antibiotiques correspondent aux Triméthoprime+sulfaméthoxazol (COT), fosfomycine et colistine ne sont pas assez importants avec des pourcentages de 8% ,18%, 18% respectivement. Ces données ne sont pas semblables à ceux marqué par **Souna** et **El Brahmi** qui rapportent des résultats plus remarquables pour Triméthoprime + sulfaméthoxazol et faibles pour la colistine.

Suite à notre étude statistique nous constatons que les proportions de résistance aux différentes classes des antibiotiques sont moins significatives par rapport aux études déjà mentionnées, cela peut être exprimé par la différence de l'environnement des prélèvements, dont nos prélèvements n'ont pas été effectués à partir de milieu hospitalier contrairement aux études précédentes ou les prélèvements des échantillons ont été faits à partir de différents services de l'hôpital.

Un parallélisme entre consommation d'antibiotiques et incidence des infections à bactéries résistantes ; une multi résistance plus fréquente chez les souches bactériennes isolées d'infections nosocomiales que chez les souches isolées d'infections communautaires ; en général les services ou les hôpitaux qui consomment le plus d'antibiotiques ont la plus forte prévalence de bactéries résistantes **(Biomérieux, 2002)**.

Conclusion

&

Perspectives

Au cours des dernières décennies, l'émergence des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques est devenue une préoccupation mondiale majeure et concerne non seulement les infections nosocomiales mais également les infections communautaires.

Au terme de notre étude réalisée au niveau de différents services de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Médéa, huit bacilles à gram négatif de multiples espèces sur l'ensemble de 49 prélèvements (urine, pus, l'environnement et l'air) ont été isolé, dont la totalité des isolats sont d'origine urinaire et de pus sachant que les espèces les plus fréquemment obtenus sont *E.coli* et *Klebsiella sp.*

L'objectif principal de notre travail était d'identifier *Enterobacter sp et Acinetobacter sp* et de suivre leurs évolutions de la résistance aux agents antimicrobiens. Vu les conditions sanitaires n'étaient pas favorables, cela ne nous a pas facilité la tâche, du coup après l'isolement nous nous somme orienter vers une étude statistique des résultats d'antibiogramme des *Enterobacter sp* validés par l'EPSP de Médéa.

Face aux résultats cumulés lors de ce travail, nous avons constaté que les résistances les plus marquées sont observées à l'égard de la famille de béta lactamine dont l'amoxicilline +acide Clavulanique et l'amoxiciline, qui ont montré les taux les plus élevés, cela est due à l'utilisation massive de cette classe d'antibiotique dans les suivis thérapeutiques ainsi que la production des béta lactamases à spectre étendu (BLSE) par les *Enterobacter sp*. Pour les autres classes d'antibiotiques, l'activité est moyenne sur ces bactéries.

Pour finir il faut dire que l'actualisation des données locales sur l'antibiorésistance pourra jouer un rôle important dans la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques.

En perspective, il serait préférable de :

- Lutter contre l'automédication, l'antibiothérapie probabiliste, la surconsommation et l'anarchie dans la prescription des antibiotiques grâce à une collaboration étroite entre cliniciens, microbiologistes et pharmaciens.

- Appliquer les mesures d'hygiène nécessaires pour éviter l'apparition d'autres foyers d'infections et d'autres mécanismes de résistance.

- Il est impératif de baser le choix thérapeutique sur des lectures d'antibiogramme dans des conditions critiques.

- Développer des alternatives évitant le recours systématique aux antibiotiques comme exemple la médecine verte et les nouveaux biomolécules possédant une activé antibactérienne.

Références Bibliographiques

Références

- Ahmad Al Atrouni. Etude de l'épidémiologie moléculaire et de l'écologie d'Acinetobacter spp au Liban. Médecine humaine et pathologie. Université d'Angers; Université libannaise de Beyrouth, 2017. Français. NNT: 2017ANGE0004 . tel-01599268 page 63.
- Ambler, R. P. (1980). The structure of β-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, *289*(1036), 321-331.
- Andremont, A. (2002). Pression de sélection antibiotique, flores commensales et évolution de la résistance. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, *15*(3), 160-165.
- AVRIL L., DARBERNAT H., DENIS F., et MONTEIL H. (2000). Bactériologie clinique, 3ème génération. Paris: *Ellipses édition Markting S.A*; 171,172p.
- Baidoo, sabrina mame aba kafui. (2017). *facteurs de risque d'aquisition d'infection a ACINETOBACTER BAUMANNI en réanimation* (Issue October 2013).
- Battraud, Paul. (2017, mars). *La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ?* (Thèse).
- Bebrone, C. (2007). Métallo-β-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *Biochemical Pharmacology*, *74*(12), 1686-1701. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.05.021
- Beijerinck, M**.** 1911. Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien. Versl. Koninklijke Akad. Wetensch. **19:**1092-1103.
- Belabbeci. A. (2014) Mémoire de Master : Profil de résistance aux aminosides de souches communautaires d'*E.coli*. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- Belhabla Tarik saadi , Benkortbi Halla , Chaib Maissa. (2017). Essai de transfert génétique de la résistance aux antibiotiques chez des souches d'*Escherichia coli* fécales aviaires. (Mémoire master en Génétique fondamentale et Appliquée).
- Bergogne-Bérézin E. The increasing role of Acinetobacter species as nosocomial pathogens. Current Infectious Disease Reports. 2007 Oct 1;3(5):440–4.
- Bergogne-Berezin, E., H. Fiedman, and M. Bendinelli**.** 2008. *Acinetobacter* Biology and pathogenesis. *In* Springer (ed.), Infectious Agents and Pathogenesis.
- Bergogne-Berezin, Towner KJ. Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological , clinical , and epidemiological features. Clinical microbiology reviews. 1996 Apr;9(2):148

- Blair, J. M. A., & Piddock, L. J. V. (2009). Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria : an update. *Current Opinion in Microbiology*, *12*(5), 512-519. https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.07.003
- Bogaerts, P., Galimand, M., Bauraing, C., Deplano, A., Vanhoof, R., De Mendonca, R., Rodriguez-Villalobos, H., Struelens, M., & Glupczynski, Y. (2007). Emergence of ArmA and RmtB aminoglycoside resistance 16S rRNA methylases in Belgium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *59*(3), 459-464. https://doi.org/10.1093/jac/dkl527
- Bonnin, R. A., Nordmann, P., & Poirel, L. (2013). Screening and deciphering antibiotic resistance inAcinetobacter baumannii : a state of the art. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, *11*(6), 571-583. https://doi.org/10.1586/eri.13.38
- Bornet, C., Saint, N., Fetnaci, L., Dupont, M., Davin-Régli, A., Bollet, C., & Pagès, J.-M. (2004). Omp35, a New Enterobacter aerogenes Porin Involved in Selective Susceptibility to Cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *48*(6), 2153-2158. https://doi.org/10.1128/aac.48.6.2153-2158.2004
- Bosi, C., Davin-Regli, A., Bornet, C., Mallea, M., Pages, J.-M., & Bollet, C. (1999). Most Enterobacter aerogenes Strains in France Belong to a Prevalent Clone. *Journal of Clinical Microbiology*, *37*(7), 2165-2169.
- Bou, G., & Martínez-Beltrán, J. (2000). Cloning, Nucleotide Sequencing, and Analysis of the Gene Encoding an AmpC β-Lactamase in Acinetobacter baumannii. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *44*(2), 428-432.
- Boubakeur H, Bachi F. (2018, septembre).Enquète épidémiologique sur le portage d'Acinetobacter baumannii dans l'état de l'antibiorésistance aux antibiotique à l'hôpital de Médéa (Mémoire de Master.Algérie : UNIVERSITE YAHIA FARES MEDEA.
- Boudia, M. (2014, juin). *Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Acinetobacter baumannii* (thèse de doctorat).
- Boudjemaa, D. (2015, mars). *Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Enterobacter cloacae* (thèse). université Abou Bekr Belkaid - Telmcen.
- Boukerouaz, A., & Benmehidi, R. (2017, juin). *Profil bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatif* (Mémoire). Université des frères Mentouri Constantine.
- Boukhatem Louiza. (2013, juin). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen. Mémoire de Master. Algérie : UNIVERSITE ABOUBEKRBELKAID TLEMCEN.

- Bouzeraa Amina, Berrihil Hadia. (2018, juillet). Bactériologie des Entérobactéries isolées au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régional. Mémoire de Master. Algérie : UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1.
- Brenner, D. J., McWhorter, A. C., Kai, A., Steigerwalt, A. G., Farmer, J. J., III (1986) Enterobacter asburiae sp. nov., a new species found in clinical specimens, and reassignment of Erwinia dissolvens and Erwinia nimipressuralis to the genus Enterobacter as Enterobacter dissolvens comb. nov. and Enterobacter nimipressuralis comb. nov. *J.Clin.Microbiol.*, **23,** 1114-1120.
- Briandet R, Fechner L, Naïtali M, Dreanno C. Biofilms, quand les microbes s'organisent. Editions Quae; 2012. 180 p. same to precedent
- Brisou, J., and A. R. Prevot**.** 1954. [Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under *Acromobacter* group]. Ann Inst Pasteur (Paris) **86:**722-8.
- Brisse, S., Milatovic, D., Fluit, A. C., Verhoef, J., Martin, N., Scheuring, S., Köhrer, K., & Schmitz, F.-J. (1999). Comparative In Vitro Activities of Ciprofloxacin, Clinafloxacin, Gatifloxacin, Levofloxacin, Moxifloxacin, and Trovafloxacin againstKlebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca,Enterobacter cloacae, and Enterobacter aerogenes Clinical Isolates with Alterations in GyrA and ParC Proteins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *43*(8), 2051-2055.
- Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *39*(6), 1211-1233. https://doi.org/10.1128/aac.39.6.1211
- Bush.K. Antibacterial drug discovery in the 21st century. Clin Microbiol Infect 2004; 10 (Suppl. 4): 10-17
- Cahn C, Vezin C. (2002). Malin Trop afrique, Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique.Editions John Libbey,Paris.P :352.
- Calgagno F., Lacroix R. (2011). *Pharma-memo Infectiologie*. Paris, France : Editions Vernazobres-Greco. 246 p.
- Carle, S. (2009, décembre). *La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! | Carle | Pharmactuel*. Pharmactuel.
- Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G. S., Colomb-Cotinat, M., Kretzschmar, M. E., Devleesschauwer, B., Cecchini, M., Ouakrim, D. A., Oliveira, T. C., Struelens, M. J., Suetens, C., Monnet, D. L., Strauss, R., Mertens, K., Struyf, T., Catry, B.,… Hopkins, S. (2019). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and

the European Economic Area in 2015 : a population-level modelling analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, *19*(1), 56-66.

- Cattoir, V., Denis, F., Martin, C., Ploy, M., & Poyart, C. (2016). *Bactériologie médicale: Techniques usuelles (French Edition)* (3e éd.). Maarssen, Pays-Bas : Elsevier Gezondheidszorg.
- Cavallo J-D, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E. (2004). Bêtalactamines. EMCMaladies infectieuses. 1 : 129-202.
- Cayô, R., Rodríguez, M.-C., Espinal, P., Fernández-Cuenca, F., Ocampo-Sosa, A. A., Pascual, Á., Ayala, J. A., Vila, J., & Martínez-Martínez, L. (2011). Analysis of Genes Encoding Penicillin-Binding Proteins in Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *55*(12), 5907-5913.
- Chaabane A, Aouama K, Boughattas NA, Chakroun M. (2009). Allergie aux bétalactamines: mythe et réslités. Ed Elsevier Masson. Médicine et maladies infectieuses 39 :278-287.
- Chardain H, Barsotti O et Martine. Microbiologie en odontostomatologie. Edition : Maloine. 2006. 329p.
- Chen, Z., Li, H., Feng, J., Li, Y., Chen, X., Guo, X., Chen, W., Wang, L., Lin, L., Yang, H., Yang, W., Wang, J., Zhou, D., Liu, C., Yin, Z. (2015) NDM-1 encoded by a pNDM-BJ01-like plasmid p3SP-NDM in clinical Enterobacter aerogenes. *Front Microbiol.*, **6,** 294.
- Chevalier, J., Mulfinger, C., Garnotel, E., Nicolas, P., Davin-Régli, A., & Pagès, J.-M. (2008). Identification and Evolution of Drug Efflux Pump in Clinical Enterobacter aerogenes Strains Isolated in 1995 and 2003. *PLoS ONE*, *3*(9), e3203. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003203
- Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, Kim S, Lee SK, Lee JC. Outer membrane protein 38 of Acinetobacter baumannii localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. Cellular Microbiology. 2005 Aug;7(8):1127–38.
- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (2005) Communiqué. Numéro spécial SFM et site internet : http://www.sfm.asso.fr/
- Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. Antibiogramme [Internet]. Éditions Eska; 2006 [cited 2016 Nov 6]. Available from: http://www.unitheque.com/Livre/eska/Antibiogramme-49602.html
- Coyne, S., Courvalin, P., & Périchon, B. (2010). Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in Acinetobacter spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *55*(3), 947-953.

- Damier-Piolle, L., Magnet, S., Brémont, S., Lambert, T., & Courvalin, P. (2008). AdeIJK, a Resistance-Nodulation-Cell Division Pump Effluxing Multiple Antibiotics in Acinetobacter baumannii. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *52*(2), 557-562.
- Deguchi, T., Yasuda, M., Nakano, M., Ozeki, S., Kanematsu, E., Nishino, Y., Ishihara, S., & Kawada, Y. (1997). Detection of mutations in the gyrA and parC genes in quinolone- resistant clinical isolates of Enterobacter cloacae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *40*(4), 543-549. https://doi.org/10.1093/jac/40.4.543
- Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., & Cattoir Vincent. (2016). *Bactériologie médicale Techniques usuelles Abréviations*.
- Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Techniques et Documentation Lavoisier, Paris. P.128-129,247.
- DJOHER S**.** (2013). Etude l'écologie bactérienne chez nouveau-né à l'unité de néonatologie dans l'établissement hospitalisé E.H.S. Mère et enfant de Tlemcen. Tlemcen: *Université Abou Bekr Belkaid*
- Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, Benade S. The ecology, biology and pathogenesis of Acinetobacter spp.: an overview. Microbes and Environments. 2011;26 (2):101–12.
- Duan, Y. Q., Zhou, X. K., Di-Yan, L., Li, Q. Q., Dang, L. Z., Zhang, Y. G., Qiu, L. H., Nimaichand, S., Li, W. J. (2015) Enterobacter tabaci sp. nov., a novel member of the genus Enterobacter isolated from a tobacco stem. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **108,** 1161-1169.
- Dupont, M., Dé, E., Chollet, R., Chevalier, J., & Pagès, J.-M. (2004). Enterobacter aerogenesOmpX, a cation-selective channelmar- and osmo-regulated. *FEBS Letters*, *569*(1-3), 27-30. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.05.047
- *Echantillonnage et analyses microbiologiques - L'air méthodes volumétriques*. (s. d.). indoorpol. Consulté 16 août 2020, à l'adresse https://indoorpol.wiv isp.be/fr/methodologie/Echantillonnage%20et%20analyses%20microbiologiques/L'air% 20m%c3%a9thodes%20volum%c3%a9triques.aspx
- El Bakkouri J., Belabbes H., Zerouali K., Belaiche A., Messaouidi D., Gros Claude J. D. P. et El Mdaghri N. 2009. Résistance aux Antibiotiques d'*Escherichia coli* Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca (Maroc). European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X; 36(1): 49-5.

- EL Brahmi Redouane. (2013, décembre). Profil Epidemiologique et de résistance des bactéries multi résistantes au CHU HASSAN II de Fès. Thèse de doctorat .Maghreb : UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH.
- Espinal, P., Roca, I., & Vila, J. (2011). Clinical impact and molecular basis of antimicrobial resistance in non-baumannii Acinetobacter. *Future Microbiology*, *6*(5), 495-511. https://doi.org/10.2217/fmb.11.30
- Faure S. (2008). Les quinolones et les fluoroquinolones. Actualités pharmaceutiques. 447: 41-43.
- Figueiredo, S. (2011). *Acinetobacter spp. et réservoir de gènes de carbapénèmases Directeur*. UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11 ÉCOLE.
- Fisher, J. F.; Meroueh, S. O.; Mobashery, S. (2005). "Bacterial Resistance to β-Lactam Antibiotics: Compelling Opportunism, Compelling Opportunity†". Chemical Reviews. 105 (2): 395– 424. doi:10.1021/cr030102i. PMID 15700950.
- Florian, L. (2017, 28 août). *Antibiotiques : Les points essentiels. Site du collège national de pharmacologie médicale.
- Fomba Modibo. 2006. Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des Acinetobacter et des Staphylococcus a coagulasse négatif à l'hôpital du point G. thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako.
- Françoise Van Bambeke, Dr Sc. Pharm. Paul Tulkens.2008 Syllabus national belge de pharmacologie (coord.: Prof. A. Herchuelz [ULB]) Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse: 1. Antibiotiques 2. Antifongiques. Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain.
- Fraser S.L, Arnett M.et Sinave C.P. 2010. *Enterobacter* Infections. Contributor Information and Disclosures.emedicine infectious diseases. Editior, Cunha, B. A., State university of New York School of Medicine at Stony Brook . http/ww.medscape.com.
- Galimand, M., Courvalin, P., & Lambert, T. (2003). Plasmid-Mediated High-Level Resistance to Aminoglycosides in Enterobacteriaceae Due to 16S rRNA Methylation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *47*(8), 2565-2571.
- Galimand, M., Sabtcheva, S., Courvalin, P., & Lambert, T. (2005). Worldwide Disseminated armA Aminoglycoside Resistance Methylase Gene Is Borne by Composite Transposon Tn1548. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *49*(7), 2949-2953. https://doi.org/10.1128/aac.49.7.2949-2953.2005
- Garnier F, Denis F. (2007). Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254.

- Garrity, G., Brenner, D. J., Krieg, N. R., & Staley, J. R. (2005). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology : Volume 2 : The Proteobacteria, Part B : The Gammaproteobacteria (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Springer-Verlag))* (2nd éd.). Springer.
- Gayet, S., Chollet, R., Molle, G., Pagès, J.-M., & Chevalier, J. (2003). Modification of Outer Membrane Protein Profile and Evidence Suggesting an Active Drug Pump in Enterobacter aerogenes Clinical Strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *47*(5), 1555-1559. https://doi.org/10.1128/aac.47.5.1555-1559.2003
- Giakkoupi, P., Tzouvelekis, L. S., Tsakris, A., Loukova, V., Sofianou, D., & Tzelepi, E. (2000). IBC-1, a Novel Integron-Associated Class A β-Lactamase with Extended-Spectrum Properties Produced by an Enterobacter cloacae Clinical Strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *44*(9), 2247-2253.
- Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: mechanisms of virulence and resistance. Int J Antimicrob Agents. 2010;35[3]:219–26.
- Grimont . F, Grimont P. A.D. (2006). The Genus *Enterobacter* In : Procaryotes (3éd, Vol 6) USA, Springer, pp:197–214.
- Grimont. F, Grimont P. A.D. (2002) *Enterobacter* In : *Bergy's Manual of Systematic Bacteriology* (2éd, Vol 2 : *The Proteobacteria*, Partie B : *The Gammaproteobacteria*) USA, Springer, pp : 661-671.
- Grotiuz, G., A. Sirok, P. Gadea, G. Varela, and F. Schelotto. 2006. Shiga toxin 2-producing Acinetobacter haemolyticus associated with a case of bloody diarrhea. J Clin Microbiol 44:3838-41.
- Gu, C. T., Li, C. Y., Yang, L. J., Huo, G. C. (2014) Enterobacter xiangfangensis sp. nov., isolated from Chinese traditional sourdough, and reclassification of Enterobacter sacchari Zhu et al. 2013 as Kosakonia sacchari comb. nov. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, **64,** 2650-2656.
- Guardabassi L., Courvalin P. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press : Washington, 2006, 1-18.
- Hamza R. (2010). Epidemiologie des infections associées aux soins. Revue Tunisienne d'Infectiologie - Janvier 2010, Vol.4: 1 – 4.
- Hardoim, P. R., Nazir, R., Sessitsch, A., Elhottova, D., Korenblum, E., van Overbeek, L. S., van Elsas, J. D. (2013) The new species Enterobacter oryziphilus sp. nov. and

Enterobacter oryzendophyticus sp. nov. are key inhabitants of the endosphere of rice. *BMC.Microbiol.*, **13,** 164.

- Hidron AI, Edwards JR, Patel J. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006 -2007. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008; 29(11):996–1011.
- Ho, H. J., Toh, C. Y., Ang, B., Krishnan, P., Lin, R. T., La, M. V., Chow, A. (2015) Outbreak of New Delhi metallo-beta-lactamase-1-producing Enterobacter cloacae in an acute care hospital general ward in Singapore. *Am.J.Infect.Control*.
- Hoffmann, H., Stindl, S., Stumpf, A., Mehlen, A., Monget, D., Heesemann, J., Schleifer, K. H., Roggenkamp, A. (2005) Description of Enterobacter ludwigii sp. nov., a novel Enterobacter species of clinical relevance. *Syst.Appl.Microbiol.*, **28,** 206-212.
- Höltje J.V. Growth of the Stress-Bearing and Shape-Maintaining Murein Sacculus of Escherichia coli. Microbiol. Mol. Biol. Rev.March 1998 vol. 62 no. 1. p181-203.
- Hooper, D. C. (2000). Mechanisms of Action and Resistance of Older and Newer Fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*, *31*(Supplement_2), S24-S28.
- Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., & Sleator, R. D. (2012). Acinetobacter baumannii. *Virulence*, *3*(3), 243-250. https://doi.org/10.4161/viru.19700
- Huang, L., Wang, X., Feng, Y., Xie, Y., Xie, L., & Zong, Z. (2015). First identification of an IMI-1 carbapenemase-producing colistin-resistant Enterobacter cloacae in China. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **14,** 51.
- Huang, S., Dai, W., Sun, S., Zhang, X., & Zhang, L. (2012). Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance and Aminoglycoside Resistance Determinants among Carbapeneme Non-Susceptible Enterobacter cloacae. *PLoS ONE*, *7*(10), e47636.
- Iabadene H., Messai Y., Alouache S., Arlet G. et Bakour R. 2010. Mécanismes de résistance aux β-lactamines et aux quinolones d'*Enterobacter* dans les hôpitaux d'Alger. Revue Tunisienne d'Infectiologie; 4 (1): 24.
- Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Ramdani-Bouguessa, N., Lounes, S., Bakour, R., & Arlet, G. (2008). Dissemination of ESBL and Qnr determinants in Enterobacter cloacae in Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *62*(1), 133-136.
- Inoue, K., Sugiyama, K., Kosako, Y., Sakazaki, R., Yamai, S. (2000) Enterobacter cowaniisp. nov., a new species of the family Enterobacteriaceae. *Curr.Microbiol.*, **41,** 417-420.

- J.P. Lavigne. Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance - Faculté de Médecine Montpellier - Nîmes [Internet]. 2007 [cited 2020 Mar 24]. Available from: http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_1/PCEM2/mod-base/MB7_Bio_Med/Ressources_locales/BACTERIO/B6-ATB_et_resistance.pdf
- Jawad, A., Hawkey, P. M., Heritage, J., & Snelling, A. M. (1994). Description of Leeds Acinetobacter Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important Acinetobacter spp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. *Journal of Clinical Microbiology*, *32*(10), 2353-2358.
- Joly B. et Reynaud A. 2007. Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p 3-182.
- Joly-Guillou M-L, Bergogne-Bérézin E**.** 2006 May .Les bactéries du genre Acinetobacter revisitées : leur importance actuelle. Antibiotiques. 1;8(1):94–9.
- Joly-Guillou M-L, M.Kempf. Acinetobacter : épidémiologie et diagnostic microbiologique - ClinicalKey. Biol Med (Paris). 2013;8[4]:1–8.
- Joly-Guillou, M. L. 2005. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. Clin Microbiol Infect **11:**868-73.
- Jung, J., & Park, W. (2015). Acinetobacter species as model microorganisms in environmental microbiology : current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *99*(6), 2533-2548. https://doi.org/10.1007/s00253-015-6439-y
- Kampfer, P., McInroy, J. A., Glaeser, S. P. (2015) Enterobacter muelleri sp. nov., isolated from the rhizosphere of Zea mays. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*.
- Kampfer, P., Ruppel, S., Remus, R. (2005) Enterobacter radicincitans sp. nov., a plant growth promoting species of the family Enterobacteriaceae. *Syst.Appl.Microbiol.*, **28,** 213-221.
- Khennouchi Nour Chems El Houda. (2016). Evaluation de l'antibiorésistance du genre Enterobacter aux antibiotiques. Thèse de Doctorat. Algérie : UNIVERSITE BADJI MOKHTAR ANNABA.
- Khennouchi, N. C. . e. l. . H., Loucif, L., Boutefnouchet, N., Allag, H., & Rolain, J.-M. (2015). MALDI-TOF MS as a Tool To Detect a Nosocomial Outbreak of Extended-Spectrum-β-Lactamase- and ArmA Methyltransferase-Producing Enterobacter cloacae Clinical Isolates in Algeria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *59*(10), 6477-6483.
- Khunthongpan, S., Bourneow, C., Kittikun, A., Tanasupawat, S., Benjakul, S., Sumpavapol, P. (2013) Enterobacter siamensis sp. nov., a transglutaminase-producing

bacterium isolated from seafood processing wastewater in Thailand. *J.Gen.Appl.Microbiol.*, **59,** 135-140.

- Koridak I, Bekkouche R. (2019, juin). L'effet antibactérien de la vitamine C sur des souches originaires de l'hôpital Benzedjeb.Mémoire de Master.Algérie : Centre universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain Témouchent.
- Lagier, J. C., El, K. K., Mishra, A. K., Robert, C., Raoult, D., Fournier, P. E. (2013) Non contiguous-finished genome sequence and description of Enterobacter massiliensis sp. nov. *Stand.Genomic.Sci.*, **7,** 399-412.
- LAI SW, NG KC, LIU CS *et al*. *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: clinical features and antimicrobial susceptibilities of isolates. Kaohsiung *J Med Sciences* 1999 ; **15** : 406-13
- Lai, M. (2013). *Réévaluation des connaissances et représentation des parents d'enfants atteints de viroses saisonnières vis-àvis de la prescription d'antibiotiques.* UNIVERSITÉ PARIS DIDEROT - PARIS 7.
- Larpent J.P. 2000. Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Les principaux groupes bactériens. Ed. TEC & DOC Paris; p 280.
- Lavigne J-P. (2007). Effet des antibioques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.
- Lebeaux, D., Ghigo, J.-M., & Beloin, C. (2014). Tolérance des biofilms aux antibiotiques : comprendre pour mieux traiter. *Journal des Anti-infectieux*, *16*(3), 112-121. https://doi.org/10.1016/j.antinf.2014.04.001
- Lee, Y., Yum, J. H., Kim, C. K., Yong, D., Jeon, E. H., Jeong, S. H., Ahn, J. Y., & Lee, K. (2010). Role of OXA-23 and AdeABC efflux pump for acquiring carbapenem resistance in an Acinetobacter baumannii strain carrying the blaOXA-66 gene. *Annals of clinical and laboratory science*, *40*(1), 43–48.
- Lehner. A, Roger. S, Fanning. S and Iversen. C (2011). Enterobacter In : MOLECULAR DETECTION OF HUMAN BACTERIAL PATHOGENS. USA, CRC, pp : 853-863.
- Li, X.-Z., Plésiat, P., & Nikaido, H. (2015). The Challenge of Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, *28*(2), 337-418. https://doi.org/10.1128/cmr.00117-14
- Liu, C., Qin, S., Xu, H., Xu, L., Zhao, D., Liu, X., Lang, S., Feng, X., Liu, H. M. (2015) Correction: New Delhi Metallo-beta-Lactamase 1(NDM-1), the Dominant Carbapenemase Detected in Carbapenem-Resistant Enterobacter cloacae from Henan Province, China. *PLoS.One.*, 10**,** e0140726.

- Lombes, T. (2012). Synthèse d'analogues d'aminoglycosides par voie chimique et ingénierie métabolique : Application à l'étude des ARN par RMN du fluor. In Thomas Lombès. UNIVERSITE PARIS DESCARTES.
- Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Lee, J. S., Saravanan, V. S., Lee, K. C., Santhanakrishnan, P. (2010) Enterobacter arachidis sp. nov., a plant-growth-promoting diazotrophic bacterium isolated from rhizosphere soil of groundnut. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, **60,** 1559-1564.
- Madi S., Djema K. (2019, septembre). Isolement et caractérisation des bactéries multirésistantes impliquées dans les infections nosocomiales et l'environnement hospitalier au niveau de l'hôpital de LAKHDARIA.Mémoire de Master.
- Maragakis LL, Perl TM. Acinetobacter baumannii: epidemiology, antimicrobial resistance and treatment options. Clin Infect Dis 2008 ; 46 : 1254–63.
- Marti, S., J. Rodriguez-Bano, M. Catel-Ferreira, T. Jouenne, J. Vila, H. Seifert, and E. De. 2011. Biofilm formation at the solid-liquid and air-liquid interfaces by Acinetobacter species. BMC Res Notes 4:5
- Massova, I., & Mobashery, S. (1998). Kinship and Diversification of Bacterial Penicillin-Binding Proteins and β-Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *42*(1), 1-17.
- MERAD BOUDIA. (2014, juin). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii.* Thèse de doctorat .Algérie : Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- McConnell MJ, Actis L, Pachon J. Acinetobacter baumannii : human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. FEMS Microbiol Rev 2013 ; 37 : 130–55.
- Mihara K, Tanabe T, Yamakawa Y, Funahashi T, Nakao H, Narimatsu S, Yamamoto S. Identification and transcriptional organization of a gene cluster involved in biosynthesis and transport of acinetobactin, a siderophore produced by Acinetobacter baumannii ATCC 19606T. Microbiology. 2004 Aug 1;150(8):2587–97.
- Minarini, L. A. R., & Darini, A. L. C. (2012). Mutations in the quinolone resistance-determining regions of gyrA and parC in Enterobacteriaceae isolates from Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, *43*(4), 1309-1314.
- Ministère de la santé française. (2002). Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé. Air, eaux et surfaces. Ministère de la Santé. Pr JD. Cavallo, Dr G. Antoniotti, Dr N. Baffoy… 2002.

- Molitor, A. (2010, mars). Régulation de la perméabilité membranaire chez les bactéries à Gram négatif et la relation avec la sensibilité aux antibiotiques (Thèse de doctorat en Microbiologie, biologie végétale et biotechnologies). Université de Médecine, Marseille, France. http://www.theses.fr/2010AIX20658.
- Morice V. 2003. Chapitre 7 - Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants. Sur le lien : http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html.
- Mourey, L., Kotra, L. P., Bellettini, J., Bulychev, A., O'Brien, M., Miller, M. J., Mobashery, S., & Samama, J.-P. (1999). Inhibition of the Broad Spectrum Nonmetallocarbapenamase of Class A (NMC-A) β-Lactamase fromEnterobacter cloacaeby Monocyclic β-Lactams. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(36), 25260-25265. https://doi.org/10.1074/jbc.274.36.25260.
- Mussi, M. A., Limansky, A. S., & Viale, A. M. (2005). Acquisition of Resistance to Carbapenems in Multidrug-Resistant Clinical Strains of Acinetobacter baumannii: Natural Insertional Inactivation of a Gene Encoding a Member of a Novel Family of β-Barrel Outer Membrane Proteins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *49*(4), 1432-1440.
- Muylaert, A., Mainil, J. (2012).Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur "contagiosité, Ann Med Vet, vol.156, issue.1, pp.109-123, 2012.
- Nauciel C. (2000). Bactériologie médicale. Ed ellipses. pp 56.
- Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, van der Reijden TJ, Deschaght P, Passet V, Vaneechoutte M, Brisse S, Dijkshoorn L. Genotypic and phenotypic characterization of the Acinetobacter calcoaceticus- Acinetobacter baumannii complex with the proposal of Acinetobacter pittii sp. nov. (formerly Acinetobacter genomic species 3) and Acinetobacter nosocomialis sp. nov. (formerly Acinetobacter genomic species 13TU). Research in microbiology. 2011 May 31;162(4):393–404.
- Nemec A, Musilek M, Maixnerova M, De Baere T, van der Reijden TJ, Vaneechoutte M, Dijkshoorn L. Acinetobacter beijerinckii sp. nov. and Acinetobacter gyllenbergii sp. nov., haemolytic organisms isolated from humans. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2009 Jan 1;59(1):118–24.
- Nemec A, Musilek M, Sedo O, De Baere T, Maixnerova M, van der Reijden TJ, Zdrahal Z, Vaneechoutte M, Dijkshoorn L. Acinetobacter bereziniae sp. nov. and Acinetobacter guillouiae sp. nov., to accommodate Acinetobacter genomic species 10 and 11,

respectively. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2010 Apr 1;60(4):896–903.

- Nguyen, J.-C., & Lambert, T. (2012). Interprétation phénotypique de l'antibiogramme vis-à-vis des aminosides. *Revue Francophone des Laboratoires*, *2012*(445), 75-77.
- Nikaido, H. (2003). Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *67*(4), 593-656.
- Nordmann P. (2006). L'émergence de la résistance aux quinolones chez les entérobactéries. Pathologie Biologie. 54 : 7-9.
- Nordmann, P., Dortet, L., & Poirel, L. (2012). Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae : here is the storm ! *Trends in Molecular Medicine*, *18*(5), 263-272.
- Nukaga M, Mayama K, Hujer A-M, Bonoma R-A, Knox J-R. 2003. Ultrahigh resolution of class A beta-lactamase: on the mechanism and specificity of the extendedspectrum SHV-2 enzyme. Journal of Molecular Biology. 328:289-301.
- O'Donnell, J. A., & Gelone, S. P. (2000). FLUOROQUINOLONES. *Infectious Disease Clinics of North America*, *14*(2), 489-513. https://doi.org/10.1016/s0891-5520(05)70260-9.
- Obana, Y. 1986. Pathogenic significance of *Acinetobacter calcoaceticus*: analysis of experimental infection in mice. Microbiol Immunol **30:**645-57.
- Omar B.S. (2010). Surcout de l'infection nosocomiale en réanimation médicale au CHU Ibn Rochd (à propos de 10 cas), université Sidi Mohammed ben Abdellah faculté de médecine et de pharmacie, Fès N°091.P :38-39.
- Organisation Mondiale de la Santé, prévention des infections nosocomiales, 2ème Edition, Genève, 2008.
- Organisation mondiale de la santé. (2010, 8 décembre). *OMS | Prévention des infections nosocomiales*.https://www.who.int/publications/list/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12/fr
- Osterblad, M., Kirveskari, J., Hakanen, A. J., Tissari, P., Vaara, M., & Jalava, J. (2012). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Finland : the first years (2008-11). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *67*(12), 2860-2864.
- Page Clive P, Curtis Michael J, Sutter Morly C. (1999). Pharmacologie intégrée. pp 491.
- Pagès, J.-M., James, C. E., & Winterhalter, M. (2008). The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, *6*(12), 893-903. https://doi.org/10.1038/nrmicro1994
- Pavan, M. E., Franco, R. J., Rodriguez, J. M., Gadaleta, P., Abbott, S. L., Janda, J. M., Zorzopulos, J. (2005) Phylogenetic relationships of the genus Kluyvera: transfer of

Enterobacter intermedius Izard et al. 1980 to the genus Kluyvera as Kluyvera intermedia comb. nov. and reclassification of Kluyvera cochleae as a later synonym of K. intermedia. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, **55,** 437-442.

- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii* : emergence of a successful pathogen. Clin. Microbiol. Rev., 2008, 21 (3), pp.538-582.
- Peng, G., Zhang, W., Luo, H., Xie, H., Lai, W., Tan, Z. (2009) Enterobacter oryzae sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the wild rice species Oryza latifolia. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, **59,** 1650-1655.
- Perez, F., Hujer, A. M., Hujer, K. M., Decker, B. K., Rather, P. N., & Bonomo, R. A. (2007). Global Challenge of Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *51*(10), 3471-3484.
- Périchon, B., Courvalin, P., & Galimand, M. (2007). Transferable Resistance to Aminoglycosides by Methylation of G1405 in 16S rRNA and to Hydrophilic Fluoroquinolones by QepA-Mediated Efflux in Escherichia coli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *51*(7), 2464-2469. https://doi.org/10.1128/aac.00143-07
- Perronne Christain. (1999). Maladies infectieuses, volume 1. pp65.
- Pfeifle, D., Janas, E., & Wiedemann, B. (2000). Role of Penicillin-Binding Proteins in the Initiation of the AmpC β-Lactamase Expression in Enterobacter cloacae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *44*(1), 169-172.
- Piddock, L. J. V. (2006). Multidrug-resistance efflux pumps? not just for resistance. *Nature Reviews Microbiology*, *4*(8), 629-636. https://doi.org/10.1038/nrmicro1464.
- Poirel, L., Naas, T., & Nordmann, P. (2009). Diversity, Epidemiology, and Genetics of Class D β-Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *54*(1), 24-38.
- Poole, K. (2005). Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *56*(1), 20-51. https://doi.org/10.1093/jac/dki171.
- Potron, A., Poirel, L., & Nordmann, P. (2015). Emerging broad-spectrum resistance in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii : Mechanisms and epidemiology. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *45*(6), 568-585.
- Potron, A., Poirel, L., & Nordmann, P. (2015). Emerging broad-spectrum resistance in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: Mechanisms and epidemiology. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *45*(6), 568-585.
- Pradel, E., & Pagès, J.-M. (2002). The AcrAB-TolC Efflux Pump Contributes to Multidrug Resistance in the Nosocomial Pathogen Enterobacter aerogenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *46*(8), 2640-2643.

- Prescott, L. M., Klein D. A., and Harley J. P. 2010. Microbiologie 3e ed., De Boeck Université, Bruxelles. 1088 pages.
- Quesnel, C. (1998, septembre). CONtrôles microbiologiques en hygiène hospitalière Conseils pratiques. Consulté le 14 février 2020, à l'adresse http://www.cpias.fr/nosobase/recommandations/cclin_arlin/cclinSudOuest/1998_environnement_CCLIN.pdf.
- Rivière, H. (1995). *ACINETOBACTER BAUMANNI : sensibilités aux antibiotiques de souches isolées au bloc de réanimation respiratoire en 1993*. Université de LIMOGES.
- Roca, I., Espinal, P., Vila-Farrés, X., & Vila, J. (2012). The Acinetobacter baumannii Oxymoron : Commensal Hospital Dweller Turned Pan-Drug-Resistant Menace. *Frontiers in Microbiology*, *3*, 148. https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00148
- Rossolini, G. M., D'Andrea, M. M., & Mugnaioli, C. (2008). The spread of CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, *14*, 33-41. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01867.x
- Ruppé, E. (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*, *12*(1), 3-16. https://doi.org/10.1016/j.antib.2010.01.003
- Sanders, C. C. (2001). Mechanisms Responsible for Cross-Resistance and Dichotomous Resistance among the Quinolones. *Clinical Infectious Diseases*, *32*(Supplement_1), S1-S8. https://doi.org/10.1086/319369
- Savov E, Chankova D, Vatcheva R, Dinev N**.** In vitro investigation of the susceptibility of Acinetobacter baumannii strains isolated from clinical specimens to ampicillin/sulbactam alone and in combination with amikacin. International Journal of Antimicrobial Agents. 2002 Nov 30;20(5):390–2.
- SOUNA D**.** (2011)**.** Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes. Mémoire de Magister en Biologie. Algérie: Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen; *126p.*
- Stephan, R., Van, T. S., Cleenwerck, I., Iversen, C., Joosten, H., De, V. P., Lehner, A. (2008) Enterobacter pulveris sp. nov., isolated from fruit powder, infant formula and an infant formula production environment. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, **58,** 237-241.
- Stephan, R., Van, T. S., Cleenwerck, I., Vancanneyt, M., De, V. P., Lehner, A. (2007) Enterobacter turicensis sp. nov. and Enterobacter helveticus sp. nov., isolated from fruit powder. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, **57,** 820-826.
- Tankovic, J. (2000) [Antibacterial antibiotics. General data on mode of action and mechanisms of resistance]. Rev.Prat., **50,** 425-432.

- Teo, J. W. P., La, M.-V., Krishnan, P., Ang, B., Jureen, R., & Lin, R. T. P. (2013). Enterobacter cloacae producing an uncommon class A carbapenemase, IMI-1, from Singapore. *Journal of Medical Microbiology*, *62*(7), 1086-1088.
- Thiolas, A., Bornet, C., Davin-Régli, A., Pagès, J.-M., & Bollet, C. (2004). Resistance to imipenem, cefepime, and cefpirome associated with mutation in Omp36 osmoporin of Enterobacter aerogenes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *317*(3), 851-856. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.03.130
- Towner KJ. *Acinetobacter* : an old friend, but a new enemy. J. Hosp. Infect., 2009, 73 (4), pp.355-363.
- Vakulenko, S. B., & Mobashery, S. (2003). Versatility of Aminoglycosides and Prospects for Their Future. *Clinical Microbiology Reviews*, *16*(3), 430-450.
- Walsh, T. R., Toleman, M. A., Poirel, L., & Nordmann, P. (2005). Metallo-β-Lactamases : the Quiet before the Storm ? *Clinical Microbiology Reviews*, *18*(2), 306-325. https://doi.org/10.1128/cmr.18.2.306-325.2005
- Wolff M, Joly-Guillou ML, Pajot O. (2009). Les carbapénèmases. Comparative review of carbapenemes. Reanimation 18: S199-S208.
- WRIGHT, G. (2005). Bacterial resistance to antibiotics : Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *57*(10), 1451-1470.
- Wu, Q., Zhang, Y., Han, L., Sun, J., & Ni, Y. (2008). Plasmid-Mediated 16S rRNA Methylases in Aminoglycoside-Resistant Enterobacteriaceae Isolates in Shanghai, China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *53*(1), 271-272.
- Yala D, Merad A-S, Mohameddi D, Ooar Korich M-N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. Ed Médecine du Maghreb. 91 :1.
- Yao, Q., Zeng, Z., Hou, J., Deng, Y., He, L., Tian, W., Zheng, H., Chen, Z., & Liu, J.-H. (2011). Dissemination of the rmtB gene carried on IncF and IncN plasmids among Enterobacteriaceae in a pig farm and its environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *66*(11), 2475-2479. https://doi.org/10.1093/jac/dkr328
- Zerrouk H. (2013). Evaluation de l'implantation du comité de lutte contre les infections nosocomiales au niveau du Centre Hospitalier Régional El Idrissi de KENITRA.Mémoire de fin d'études cycle de Master et Administration Sanitaire et Santé Publique. Centre collaborateur de l'OMS. École Nationale de Santé Publique, Royaume du Maroc.2013
- Zhu, B., Zhou, Q., Lin, L., Hu, C., Shen, P., Yang, L., An, Q., Xie, G., Li, Y. (2013) Enterobacter sacchari sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane (Saccharum officinarum L.). *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, **63,** 2577-2582.

- Ziai, S. (2014). *La résistance bactérienne aux antibiotiques : apparition et stratégies de lutte*. UNIVERSITE DE LIMOGES.

Annexes

Annexe 1 : Les milieux de culture

- **Gélose Nutritive (GN)**

Extrait de viande ……..……..…1,0g
Extrait de levure ……...…..……..…2,5g
Peptone …….……...…5,0g
Chlorure de sodium ……..……..…5,0 g
Agar …….....……15,0 g
PH = 7,0

➢ **Préparation**

- Mettre en suspension 20,0 g dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sur un agitateur magnétique chauffante jusqu'à sa dissolution.
- Répartir en flacons. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- **Gélose d'éosine bleu de méthylène (EMB)**

Peptone …….……..…10,0 grammes
Lactose ……..…….....……10,0 grammes
Eosine …….....…0,4 gramme
Bleu de méthylène……..……...…0,0625 gramme
Hydrogénophosphate de potassiu……...2,0 grammes
Agar…….....…...15,0 grammes
PH = 6,8

➢ **Préparation**

- Verser les composants que nous avons pesés précédemment dans un erlenmeyer 1000 ml .
- Ajouter 1L d'eau distillé et porter sur un agitateur magnétique chauffante jusqu'à l'homogénéisation et l'ébullition.
- Ajuster le PH au 6.8.
- Répartir en flacons. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- **Milieu Hektoen**

Protease-peptone……..……..….12.0g
Extrait de levure……..…..3.0g
Lactose……...……12.0g
Saccharose……..……12.0g
Salcine……..……..……2.0g
Citrate de fer III et d'ammonium……..1.5g
Sels biliaire……..……9.0g
Fuschine acide……..……0.1g
Bleu de bromothymole……...……...…..0.065g
Chlorure de sodium……...……..…..5.0g
Thiosulfate de sodium……...……..…..5.0g
Agar……..……..13.0g
pH=7.5

- **Gélose Mac Conkey (MC)**

Peptone…….. 20,0 g
Lactose ……...…….…...10,0 g
Sels biliaires ……...…….…….5,0 g
Cristal violet ……..……..…….0,001 g
Rouge neutre ……...…...……..……0,075 g
Chlorure de sodium…….. 5,0 g
Agar ……...12,0 g
pH final 7,4 ± 0,2

- **Gélose Mueller-Hinton**

Infusion de la viande de bœuf ……300ml
Peptone de caséine……...17,5 g
Amidon de maïs…….……1,5g
Agar ……17g
PH = 7,4

1. Bouillon nutritif

Tryptone ……..…….……10 g
Extrait de viande ……..…….……10 g
Chlorure de sodium …….5 g
PH=7.2± 0.2

- **Milieu Clark-Lubs**

Peptone trypsique de viande ……5 g
Phosphate bipotassique……... 5 g
Glucose…….6 g
PH = 7

- **Milieu Urée-Indole**

L-tryptophane…….3 g
Phosphate monopotassique ……1 g
Phosphate bipotassique ……..1 g
Chlorure de sodium……... 5 g
Urée ……..20 g
Alcool à 90°……... 10 ml
Rouge de phénol……..0.025 g
PH =7

- **Milieu Citrate de Simmons**

Sulfate de Magnésium ……...….. 0,2g/l
Phosphate mono ammoniaque …… 1g/l
Phosphate dipotassique ……1g/l
Citrate de Sodium ……...…… 2g/l
NaCl 5g/l
Bleu de bromothymol …….……..……. 80mg/l
Agar…….12g/l
PH=6,8

Annexe 02 : Réactifs et solution

- **Sérum physiologique**

Chlorure de Sodium.....9g

Eau distillée .....1000 mL

- **Violet de gentiane**

Phénol..... 2.0 g

Violet de gentiane..... 1.0 g

Éthanol à 90°..... 10 ml

Eau distillée..... 100 ml

- **Lugol**

Iodure de potassium..... 2.0 g

Iode métalloïde..... 1.0 g

Eau distillée ..... 300 ml

- **Fuschine de ziehl**

Fuchine basique..... 1.0g

Phénol..... 5.0 g

Éthanol à 90°.....10 ml

Eau distillée .....100 ml

- **Réactif de Kovacs**

P-dimethyl aminobenzaidéhyde……..……..……..…… 7g/l

Alcool amylique…….…….……75ml

Acide chlorhydrique concentré ……20ml

- **Réactif de Voges-Proskauer**

- **VP I**

Hydroxyde de Potassium…….…….40g/l

Eau……...……...…100ml

- **VP II**

alpha-naphtol ……..……..……..…… 6 g/l

Ethanol ……..……..……..……... 100ml

- **Réactif TDA**

Perchlorure de fer ….…….. 3,4g/l

Eau distillée stérile ……..100ml

Annexe 3 : coloration de gram

La coloration de Gram à pour but de classer les bactéries selon leur Gram **(G-, G+),** leur morphologie (Cocci, Bacille), et leur mode d'association (en chainette, libre). Elle est consistée à la coloration d'un frottis à l'aide de réactifs spécifiques.

ETAPES	MODE OPERATOIRE	TEMPS
Coloration primaire	- Recouvrir la lame de cristal violet ou violet de gentiane - Laver l'excès du colorant par rinçage à l'eau distillée	1 minute
Mordançage	- Recouvrir de **Lugol** - Rincer à l'eau distillée et l'égoutter	45 secondes
Décoloration	-Traiter la lame inclinée avec un solvant organique(l'alcool 95°) jusqu'à écoulement incolore. - Rincer immédiatement à l'eau distillée et égoutter	30 secondes
Coloration secondaire	- Recouvrir la lame de **fuschine** - Rincer à l'eau distillée	1 minute
Séchage	- Egoutter entre 2 morceaux de papier filtre et laisser sécher.	

Pour l'observation microscopique (grossissement X 100), on ajoute une goute d'huile d'immersion.

Annexe 4 : tableau de lecture de résultat de galerie AP 20E

Tests	Réactions/enzymes	Résultats négatifs	Résultats positifs
ONPG	B-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
ODC	Ornithine decarboxylase	Jaune	Rouge/orange
CIT	Citrate utilisation	Vert pile/jaune	Bleu-vert/bleu
H2S	H_2S production	incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin lisère
URE	Urease	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane désaminase	TDA/immédiat	
		Jaune	Marron-rougeâtre
		JAMES/immédiat	
IND	Indole production	Incolore Vert-pâle/jaune	Rose
		VP 1+ VP 2/ 10 min	
VP	Acetoin production	Incolore	Rose/rouge
GEL	Gélatinase	Aucune diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune Jaune/jaune jaune gris
MAN	Mannitol fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
INO	Inositol fermentation/oxydation		
SOR	Sorbitol fermentation/oxydation		
RHA	Rhamnose fermentation/oxydation		
SAC	Sucrose fermentation/oxydation		
MEL	Melibiose fermentation/oxydation		
AMY	Amygdalin fermentation/oxydation		
ARA	Arabinose fermentation/oxydation		

Annexe 5 : Liste des Antibiotiques

Numéro	Antibiotique	Abréviation
1	Ampicilline	AMP
2	Amoxicilline +Acide Clavulanique	AMC
3	Amikacine	AK/AN
4	Acide Nalidixique	NA
S	Cefazoline	CZ
6	Cefoxitine	FOX/OX/CX
7	Cefotaxime	CTX
8	Cefalexine	CN
9	Cefalotine	CF/CEP
10	Ceftraxone	CRO
11	Gentamicine	GN
12	Gentamicine 120(ghn)	GN 120/HLG
13	Ofloxacine	OFX
14	Kanamycine	K
15	Pristinamycine	PT
16	Ciprofloxacine	CIP
17	Nitrofuranes	FT
18	Nétilmicine	NET
19	Colistine	CS/CL
20	Tremethoprime+Sulfamides	SXT/COT
21	Ticarcillin et Acide Clavulanique	TCC
22	Ticarcilline	TIC
23	Teicophanine	TEC
24	Chloramphenicol	C/R
25	Pénicilline	P
26	Erythromycine	E
27	Clindamycine	CM/DA
28	Lévofloxacine	LEV
29	Vancomycine	VA
30	Rifampicine	RA
31	Fosfomycine	FF/FOS
32	Acide fusidique	FA
33	Tétracycline	TE
34	Streptomycine	S
35	Oxacilline	OX
36	Pipracilline	PIP / PRL
37	Tobramycine	TOB /TM

38	Azitromycin	AZT/ATM
39	Céftazidine	CAZ
40	Lincomycine	L
41	Imépéneme	IPM/IMP
42	Optochine	Op
43	Amoxicilline	AMX