REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : microbiologie appliquée

Par :

- **Khenfri nour el houda**
- **Touati achouak**

Thème :

Émergence des bacilles à Gram négatif multirésistants en milieu hospitalier aux antibiotiques

Soutenue publiquement le : 30 /06 /2025., Devant le jury composé de :

Chami Bouazza	**MCB**	U. Médéa	Président
Razali Kahina	**MCA**	U. Médéa	Examinateur
Salhi Omar	**MCA**	U. Médéa	Encadreur
Rahal Mohamed	**MCA**	U. Médéa	Co Encadreur

Année universitaire 2024/202

remerciment

Louange à Dieu pour m'avoir donné la force et la patience nécessaires à l'accomplissement de ce mémoire. Je remercie Messieurs [Salhi Omar] et [Rahal Mohammed] pour ses conseils et son suivi tout au long de ce travail. Je tiens également à remercier le personnel du laboratoire de microbiologie de l'EPH de Médéa pour leur accueil et leur aide durant la phase pratique. Mes remerciements les plus sincères vont à mes parents, en particulier ma mère, pour leur soutien inconditionnel, ainsi qu'à mes frères, sœurs et amis pour leur présence à mes côtés tout au long de ce parcours. Enfin, je me remercie moi-même d'avoir tenu bon jusqu'au bout, malgré le stress et les nuits blanches.

Dedicace

Avant toute dédicace je tiens à remercier « Allah » le tout puissant qui m'a donné le courage pour mener ce travail à terme. Je dédie ce modeste travail à Ma joie et Ma raison de vivre, ma chère mère, symbole du sacrifice et du dévouement, qui m'a accompagnée durant tout ce parcours laborieux. A mon père, à qui je dois du respect, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour tout l'effort et soutien incessant qui m'a toujours apporté. Puisse Dieu leur accorder santé, bonheur, prospérité et longue vie. A mes chères frères: younes ,mohamed, abdelkafi Ma chère grande mère A tous mes amis. A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin Et toute ma famille.

Khenfri nour el houda

. Dedicace

À ma chère mère, Pour ton amour inconditionnel, tes sacrifices silencieux, tes prières constantes et ta force de chaque jour. Ce travail est avant tout le fruit de ta patience et de ton soutien. À mon père, Pour ta confiance et tes encouragements tout au long de mon parcours. À mes frères et sœurs, Pour votre présence, vos mots rassurants et votre soutien moral. À toutes les personnes qui ont cru en moi. Je vous dédie humblement ce travail.

Touati achouak

Résumé

Les infections nosocomiales, contractées au sein des établissements de santé, représentent aujourd'hui une menace majeure pour la santé publique. Ces infections sont souvent causées par des bactéries opportunistes, notamment les bacilles à Gram négatif multirésistants (BGN-MR) comme *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii*. La résistance aux antibiotiques chez ces pathogènes est devenue un enjeu critique, réduisant considérablement les options thérapeutiques disponibles.

Ce mémoire a pour objectif d'évaluer la résistance phénotypique et génotypique des BGN isolés de l'environnement hospitalier de l'EPH de Médéa. Un total de 261 échantillons a été prélevé sur des surfaces sèches, humides et sur du matériel médical. L'isolement et l'identification bactérienne ont été réalisés à l'aide de milieux sélectifs comme CHROMagar, suivis d'une coloration de Gram et d'un antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller-Hinton.

Les résultats montrent que 23 % des échantillons étaient positifs, avec une prédominance de *Klebsiella spp. et Pseudomonas spp*.. Les antibiotiques les plus testés comprenaient les céphalosporines, les carbapénèmes et les fluoroquinolones. Une résistance marquée au céfotaxime a été observée, tandis que l'imipénème reste globalement efficace.

Sur le plan moléculaire, la PCR a permis de détecter la présence de gènes de résistance, notamment tet chez *Klebsiella et Pseudomonas.* Aucun gène AAC ou Qnr n'a été détecté. Ces données soulignent l'importance de la surveillance moléculaire en complément des tests phénotypiques.

En conclusion, cette étude met en lumière l'importance de renforcer les pratiques d'hygiène, de surveiller en continu les souches résistantes, et d'utiliser les antibiotiques de manière prudente. La dissémination des BGN-MR dans l'environnement hospitalier constitue une réalité préoccupante qui nécessite une action concertée de tous les professionnels de santé.

اليوم تهديداً خطيراً للصحة العامة. وغالباً ما تُسبب (nosocomiales العدوى) تُعد العدوى المرتبطة بالمؤسسات الصحية ، مثل (BGN-MR) هذه العدوى بكتيريا انتهازية، خاصة العصيات سالبة الغرام متعددة المقاومة للمضادات الحيوية *Escherichia coli* و*Klebsiella pneumoniae* و*Pseudomonas aeruginosa* و*Acinetobacter baumannii*. لقد أصبحت مقاومة هذه الممرضات للمضادات الحيوية مشكلة حرجة، حيث تقلصت بشكل كبير الخيارات العلاجية المتاحة.

يهدف هذا البحث إلى تقييم المقاومة الظاهرية والجزيئية للعصيات سالبة الغرام المعزولة من البيئة الاستشفائية لمستشفى بميديـة. تم جمع ما مجموعه 261 عينة من أسطح جافة، رطبة، وأدوات طبية. وقد تم عزل وتحديد البكتيريا EPH ، تلاها اختبار صبغة غرام، ثم اختبار الحساسية للمضادات الحيوية بطريقة CHROMagar باستخدام أوساط انتقائية مثل الانتشار على وسط مولر-هنتون.

أظهرت النتائج أن 23% من العينات كانت إيجابية، مع هيمنة *Pseudomonas spp.* و*Klebsiella spp.*. المضادات الحيوية الأكثر اختباراً فشلت السيفالوسبورينات، الكاربابينيمات، والفلوروكينولونات. وقد لوحظت مقاومة واضحة تجاه السيفوتاكسيم، في حين بقي الإيميبينيم فعالاً بشكل عام.

بالكشف عن وجود جينات مقاومة، خاصة PCR وعلى المستوى الجزيئي، سمحت تقنية **tet** لدى *Klebsiella* و*Pseudomonas*. وتُبرز هذه المعطيات أهمية المراقبة .Qnr أو AAC في المقابل، لم يتم الكشف عن أي من الجينات الجزيئية كإضافة ضرورية للاختبارات الظاهرية.

في الختام، تُظهر هذه الدراسة ضرورة تعزيز ممارسات النظافة، والمراقبة المستمرة للسلالات المقاومة، إضافة إلى الاستخدام الرشيد للمضادات الحيوية. إن انتشار العصيات سالبة الغرام متعددة المقاومة داخل البيئة الاستشفائية يشكل واقعاً مقلقاً يتطلب تدخلًا جماعيًا من قبل جميع المهنيين في قطاع الصحة.

English Summary

Nosocomial infections, contracted within healthcare settings, are currently a major threat to public health. These infections are often caused by opportunistic bacteria, particularly multidrug-resistant Gram-negative bacilli (MDR-GNB) such as *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii*. Antibiotic resistance among these pathogens is a critical concern, significantly limiting therapeutic options.

This study aims to evaluate the phenotypic and genotypic resistance of GNB isolated from the hospital environment of the EPH of Médéa. A total of 261 samples were collected from dry surfaces, moist areas, and medical equipment. Bacterial isolation and identification were performed using selective media like CHROMagar, followed by Gram staining and antibiotic susceptibility testing via the disc diffusion method on Mueller-Hinton agar.

The results showed that 23% of the samples were positive, with a predominance of *Klebsiella spp.* and *Pseudomonas spp.*. The most tested antibiotics included cephalosporins, carbapenems, and fluoroquinolones. A marked resistance to cefotaxime was observed, while imipenem remained generally effective.

At the molecular level, PCR analysis revealed the presence of resistance genes, particularly **tet** in *Klebsiella* and *Pseudomonas*. No AAC or Qnr genes were detected. These findings highlight the importance of combining molecular surveillance with phenotypic testing.

In conclusion, this research underscores the need to strengthen hygiene protocols, monitor resistant strains continuously, and promote prudent use of antibiotics. The spread of MDR-GNB in hospital environments represents a concerning reality that calls for coordinated action among healthcare professionals.

Liste des table

Tableau N°	Titre	Page
1	Classification des zones hospitalières selon le niveau de risque et les services concernés.	05
2	Classification taxonomique de Entérobactéries.	07
3	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de E. coli	10
4	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Salmonella	12
5	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de *Shigella*	14
6	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques d'Enterobacter	16
7	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Serratia	17
8	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Klebsiella	20
9	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Citrobacter	21
10	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Yersinia	24
11	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Proteus-Morganella	26
12	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Acenitobacter	28
13	Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Pseudomonas	29

14	Classification des antibiotiques	33
15	Phénotypes de résistance des entérobactéries aux aminosides	41
16	Phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones	42
17	Tableau des Composants et Volumes pour la Préparation du Mix PCR Standar	59
18	Distribution des bactéries multi résistantes par service et couleur de colonie	64
19	Profil de Résistance et de Sensibilité des Isolats Bactériens aux Antibiotiques dans Différents Services Hospitaliers	66
20	Résultats de l'antibiogramme par diffusion en disque sur gélose(Mueller-Hinton)	68

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
1	Aspect des cultures des différentes espèces d'entérobactéries sur géloses spéciales.	07
2	Images au microscope électronique à balayage de bactéries bacillaires Escherichia coli.	08
3	Aspect des colonies d'E. coli O157 :H7 et des producteurs de Shiga toxine (STEC) sur milieux chromogènes	09
4	Acinetobacter, coloration de Gram.	27
5	Pseudomonas observée au microscope électronique avec un grossissement de 15 000 fois.	30
6	Les principaux critères de classification des antibiotiques	33
7	Sélection de souches résistantes aux antimicrobiens	35
8	Mécanismes de résistance des bactéries Gram-négatives, et les antibiotiques touchés.	37
9	l'EPH de Médéa	45
10	Préparation et conservation es souches bactériennes en milieu BHIB/ glycérol (photo personnelle, 2025).	48
11	Préparation de milieux de culture (photo personnelle, 2025).	50
12	Flacon de Mueller Hinton Agar (photo personnelle, 2025).	50
13	Des Prélèvements avec écouvillons dans l'environnement hospitalité (photo personnelle, 2025).	50
14	Technique d'ensemencement sur boîte CHROMagar (photo personnelle, 2025). .	54

15	Méthode L'ensemencement par l'écouvillonnage sur milieu MH (photo personnelle, 2025).	54
16	Technique Application des disques (photo personnelle,2025).	55
17	Pesée du EDTA pour la préparation de la solution d'EDTA 0,5 M (Pesée précise de la quantité de EDTA à l'aide d'une balance analytique) (photo personnelle, 2025).	56
18	Pesée de l'EDTA pour la préparation de la solution tampon (Utilisation d'une balance de précision pour peser 0,389 g d'EDTA.) (Photo personnelle, 2025).	57
19	Préparation du gel d'agarose — pesée de l'agarose et chauffage au micro-ondes (photo personnelle, 2025).	58
20	Utilisation d'un thermo-agitateur pour l'incubation des tubes Eppendorf (photo personnelle, 2025).	58
21	Préparation du Master Mix pour l'amplification PCR (photo personnelle, 2025).	60
22	Hotte à flux laminaire la hotte à flux laminaire et hotte de rayonnement ultraviolet (UV) (photo personnelle, 2025).	60
23	Amplification des souches dans le thermocycleur (photo personnelle, 2025).	61
24	Étape de chargement du gel d'agarose pour analyse électrophorétique des acides nucléiques (photo personnelle, 2025).	62
25	Répartition des résultats.	63
26	L'observation microscopique de l'état frais (photo personnelle, 2025) **.**	63
27	L'observation microscopique des bactéries après coloratuiion de GRAM **(**photo personnelle, 2025) .	64
28	Répartition des Bactéries à Gram Négatif Fermentatives (BGNF) et Non Fermentatives (BGNnF) dans le milieu Hospitalières.	65
29	Résultats de l'antibiogramme par diffusion en disque sur gélose (Mueller-Hinton) (photo personnel).	67

30	Détection du gène TET chez Klebsiella et Pseudomonas (photo personnelle, 2025).	68
31	Taux de résistance des souches bactériennes aux familles d'antibiotiques Qnr, AACet TET.	68

Introduction : 1
I. Définition de l'environnement hospitalier 5
1. zone de risques dans les hôpitaux page 5
2. Définition d'infection nosocomiale 5
3. Agent d'infection nosocomiale 6
II. Généralité sur les bacilles gram négatif multirésistantes 6
A. Les bactéries fermentaires : Entérobactéries 7
1. Escherichia coli 8
a) L'habitat 9
b) Les caractéristiques 10
c) Pouvoir pathogène 11
2. Salmonella 11
a) L'habitat 11
b) Les caractéristiques 11
c) Pouvoir pathogène 13
3. Shigella 13
a) L'habitat 13
b) Les caractéristiques 14
c) Pouvoir pathogène 15
4. Enterobacter 15
a) L'habitat 15
b) Les caractéristiques 15
c) Pouvoir pathogène 16
5. Serratia 17
a) L'habitat 17
b) Les caractéristiques 17
c) Pouvoir pathogène 18
6. Klebsiella 18
a) L'habitat 19
b) Les caractéristiques 19

c) Pouvoir pathogène.....21
7. Citrobacter 21
a) L'habitat 21
b) Les caractéristiques.....21
c) Pouvoir pathogène 22
8. Yersinia 22
a) L'habitat 23
b) Les caractéristiques.....23
c) Pouvoir pathogène 25
9. Proteus-Morganella.....25
a) L'habitat 25
b) Les caractéristiques.....25
c) Pouvoir pathogène 27
B. Les bacilles gram négatif non fermentative.....27
1. Acenitobacter 27
a) L'habitat 28
b) Les caractéristiques.....28
c) Pouvoir pathogène 29
2. Pseudomonas.....29
a) L'habitat 29
b) Les caractéristiques.....29
c) Pouvoir pathogène 30

Chapitre2

1. Définition des antibiotiques et des antimicrobiens 32
2. La résistance bactérienne 34
3. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance 34
4. Types de la résistance bactérienne 35
4.1. Résistance naturelle (intrinsèque) 35
4.2. Résistance acquise.....35
5. Mécanisme de résistance chez les bactéries à Gram négatif.....36

6. Phénotype de résistance 37
7. Résistance des bactéries Gram négatif multirésistants non fermentaires aux antibiotiques 37
7.1. Multirésistance chez P. aeruginosa 37
7.1.1. Résistance aux antibiotiques aminosides 37
7.1.2. Résistance à la ciprofloxacine 38
7.1.3. Résistance aux β-lactamines chez Pseudomonas aeruginosa 38
7.1.3.1 Céphalosporinase chromosomique (ampC) 38
7.1.3.2 β-lactamases acquises 39
7.2. Chez acinetobacter baumanni 39
7.2.1. Résistance aux β-lactamines 39
7.2.1.1. Résistance naturelle 39
7.2.1.2. Résistance acquise 39
8. Résistance chez les entérobactéries 40
8 .1. La résistance aux aminosides 40
8.2. La résistance aux quinolones 41
8.3. La résistance aux β-lactamines 42
8.3.1. Résistance non enzymatique 42
8.3.1.1. Diminution de la perméabilité 42
8.3.1.2. Hyperproduction de système d'efflux 42
8.3.1.3. Modification des protéines liant la pénicilline (PLP) 42
8.3.2. Résistance enzymatique 42
8.3.2.1. Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE) 42
8.3.2.2. Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique de classe C (céphalosporinase de haut niveau) 43
8.3.2.3. Les carbapénémases 43
1. Cadre de l'étude 45
1.2. Objectif de l'étude 45
3. Matériel 46
3.1. Verrerie utilisée 46
3.2. Outils 46

3.3. Appareillage 46
3.4. Réactifs et autres substances 47
3.5. Milieux de culture 47
4. Méthodes 48
4.1. Lieu et période d'étude 48
4.2. Préparation des milieux de culture 48
4.3. Échantillonnage 50
4.4. Isolement 50
4.5. Conservation des souches 51
4.6. Identification bactérienne 51
4.6.1. Identification morphologique 51
4.6.1.1. Étude macroscopique et isolement 51
4.6.1.2. Étude microscopique Elle comprend l'examen à l'état frais et après coloration ... 52
4.7. Identification biochimique 53
- Test de l'oxydase 53
4.8. Identification sur milieu CHROMagar Orientation ..... .53
4.9. Antibiogramme 53
- Préparation de l'inoculum 53
- Ensemencement 54
- Lecture des résultats 55
4.10. Identification moléculaire 55
4.1.1. Préparation des milieux de PCR 55
Préparation du tampon TE (Tris +EDTA) 55
EDTA. 55
- Tampon TE 1X 56
- Tampon TBE 57
4.10.2. Préparation du gel d'agarose 57
4.10.3. Protocol d'extraction de l'ADN 58
4.10.4. Préparation du Master Mix 59
4.10.5. Préparation de mix du PCR standard 60
4.10.6. Amplification du mélange réactionnel 61

4.10.7. Electrophorèse 61
4.10.8. Dépôt des échantillons 62
4.10.9. Visualisation des fragments d'ADN 62
Résultats 63
1. Résultats bactériologiques 63
- État frais 63
- Coloration de Gram 64

2. Résultat de l'identification par chromaagar 64
3. Identification biochimique 66
- Teste oxydase 66

4. Résultats Antibiogramme 66
5. Résultat d'étude moléculaire (PCR) 68
Discussion 69
Conclusion 71
Recommandation 71

Introduction

Les infections nosocomiales représentent un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale, en particulier dans les milieux hospitaliers où la pression de sélection antibiotique est intense. Ces infections sont souvent causées par des bactéries opportunistes, notamment les bacilles à Gram négatif, capables de développer une multirésistance préoccupante aux antibiotiques **(Alrashed et al., 2023).**

Les antibiotiques, découverts au XXe siècle, ont révolutionné la médecine moderne en permettant de traiter efficacement de nombreuses infections bactériennes. Toutefois, leur utilisation massive et parfois inappropriée a favorisé l'émergence et la dissémination de souches bactériennes résistantes. La résistance bactérienne est définie comme la capacité d'une souche à survivre et se multiplier malgré l'administration d'un antibiotique à des concentrations efficaces. Elle peut être évaluée selon des critères microbiologiques, cliniques, biochimiques ou génétiques **(Arias & Murray, 2016).**

Parmi les micro-organismes les plus concernés figurent les bacilles à Gram négatif multirésistants (BGN-MR) comme Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii et Pseudomonas aeruginosa. Ces bactéries possèdent divers mécanismes de résistance, tels que la production de β-lactamases à spectre étendu (BLSE), les carbapénémases, la réduction de la perméabilité membranaire et l'activation de pompes d'efflux **(Guardabassi&Courvalin, 2006).**

La propagation de ces bactéries constitue un défi thérapeutique majeur, car elle limite considérablement les options de traitement, augmente la durée d'hospitalisation, la mortalité et les coûts de soins **(Lancet InfectiousDiseases, 2024).** Ainsi, comprendre les mécanismes de résistance et les facteurs favorisant leur émergence est fondamental pour adapter les stratégies de prise en charge et de prévention dans les hôpitaux

Ainsi, dans le cadre de notre travail expérimental, nous avons :

- Effectué des prélèvements sur des surfaces hospitalières (sèches et humides),
- Réalisé des ensemencements et isolements bactériens, mené une identification phénotypique (coloration de Gram, chromagare etc.)
- Evalué la sensibilité aux antibiotiques à l'aide de disques de différentes (antibiogramme

- Effectué une détection génotypique des gènes de résistance par PCR, en ciblant notamment les gènes

Ce travail s'inscrit dans une démarche de surveillance microbiologique, visant à mieux comprendre la situation locale en matière de BGN multirésistants, et à contribuer à la lutte contre l'antibiorésistance en milieu hospitalier.

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Bactéries Gram négatif et Environnement hospitalier

I. Définition de l'environnement hospitalier

L'environnement hospitalier englobe généralement les composants suivants : l'air, l'eau, les surfaces (sols, murs, mobilier, équipement), le linge, les aliments, les dispositifs médicaux et les déchets. Ces éléments peuvent abriter une variété de micro-organismes, et la contamination environnementale varie en qualité et en quantité selon les établissements et les services, ainsi qu'en fonction des patients (sains, colonisés ou infectés) et des pratiques de soins utilisées **(Debabza, 2015).**

1. zone de risques dans les hôpitaux

Tableau01: Classification des zones hospitaliéres selon le niveau de risque et les services concernés **(Figarella et al., 2007).**

Niveau de risque Exemples de zones.	services concernés.
Risque minimal.	Halls,bureaux administratifs, services sociaux, services généraux, salles de réunions, chambres des personnels.
Risque moyen.	Circulation générale, ascenseurs, salles d'attente, consultation externe, radiologie, rééducation, laboratoire, pharmacie, lingerie, magasins, locaux techniques, archives, buanderie, cuisine, cafétéria, sanitaires.
Risque élevé.	Salles d'hospitalisation, réanimation, urgences, salle de petite chirurgie, salle d'accouchement, salle de soins intensifs, hémodialyse, endoscopie.
Très haut risque**.**	Néonatalogie, blocs opératoires, service de greffes, services de grands brûlés.

2. Définition d'infection nosocomiale

Du grec nosos= maladie, komein= soigner, nosokomeion=hôpital.

L'infection nosocomiale est une infection non communautaire acquise dans un environnement de soins, qu'elle soit directement liée aux soins (par exemple, infection du site

opératoire) ou non (par exemple, infection urinaire non liée au sondage chez un patient âgé en séjour prolongé). Elle constitue aujourd'hui une préoccupation de santé publique dans les pays industrialisés. Les progrès de la médecine, avec le recours accru aux méthodes invasives (dispositifs intravasculaires, assistances ventilatoires, sondes urinaires), ont augmenté le risque d'infections nosocomiales **(Étienne et al., 2006).**

Une infection est dite nosocomiale lorsqu'elle est contractée au sein d'un établissement de soins et qu'elle n'était ni en incubation ni présente au moment de l'admission du patient. Pour les infections bactériennes, le délai entre l'admission et l'apparition de l'infection doit être de 48 à 72 heures, tandis que pour les infections virales, ce délai peut être plus long en fonction de la période d'incubation. Les infections maternofœtales survenant dans les 48 premières heures de vie sont généralement exclues de cette définition **(Lachassinne et al.,2004).**

3. Agent d'infection nosocomiale

Les infections nosocomiales sont principalement causées par des bactéries, qui représentent environ 90 % des cas. Parmi ces bactéries, certaines espèces sont particulièrement impliquées,notamment *Streptococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, et les membres de la famille des Enterobacteriaceae comme *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Ces agents pathogènes peuvent causer divers types d'infections selon le site corporel affecté. Par exemple, *Escherichia coli* est fréquemment responsable des infections urinaires, tandis que *Staphylococcus aureus* est plus souvent impliqué dans d'autres types d'infections. Les infections sanguines sont souvent causées par des staphylocoques à coagulase négative, et les infections des sites chirurgicaux impliquent fréquemment les entérocoques. *Pseudomonas aeruginosa* est réparti de manière uniforme dans divers sites corporels, soulignant son importance dans les infections nosocomiales. Comprendre ces agents pathogènes est crucial pour développer des stratégies efficaces de prévention et de contrôle des infections nosocomiales **(Khan et al., 2015).**

II.Généralité sur les bacilles gram négatif multirésistantes

Les bacilles à Gram négatif représentent des agents fréquents responsables d'infections communautaires, nosocomiales et opportunistes. Ces micro-organismes sont souvent responsables d'infections complexes, particulièrement chez les patients vulnérables ou en milieu hospitalier **(Dumaru et al. ,2019).** Les bacilles à Gram négatif producteurs de β-lactamases à spectre étendu constituaient les bactéries multirésistantes (BMR) les plus

fréquemment isolées. Elles se propagent principalement par contact et via des surfaces contaminées **(Blazejewski et al. ,2012).**

A. Les bactéries fermentaires : Entérobactéries

La famille des Enterobacteriaceae comprend actuellement une centaine d'espèces, dont les plus fréquemment isolées en pathologie clinique appartiennent à 12 genres principaux : *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Shigella et Yersinia* **(Abraham, 2018).**

Tableau02 : classification taxonomique de Entérobactéries **(Meyer et al., 2004).**

Domaine	**Eubacteria**
Phylum XII	Proteobacteria
Classe	Cammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae

En milieu hospitalier, environ 40 à 50 % des bactéries isolées appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Cette famille regroupe des genres bactériens partageant des caractéristiques communes : elles sont aéro-anaérobies facultatives, mobiles avec une ciliature péritriche ou immobiles, non sporulées, et elles cultivent rapidement sur les milieux ordinaires. Elles ne possèdent pas d'oxydases, réduisent les nitrates en nitrites, et utilisent le glucose par fermentation avec ou sans production de gaz. La température optimale de croissance est 37C°mais la culture est possible entre 20°C et 40°C **(Debabza ,2015**). Les colonies sont généralement abondant mesurent entre 1 et 3 mm de diamètre, sont souvent bombées, lisses et brillantes, à l'exception de Les colonies de *Shigella dysenteriae, Salmonella Typhi* et *Yersinia* sont de petite taille. Les bactéries *Proteus mirabilis et Proteus vulgaris* envahissent la gélose en formant un voile caractérisé par des vagues successives **(Hello et al.,2016).**

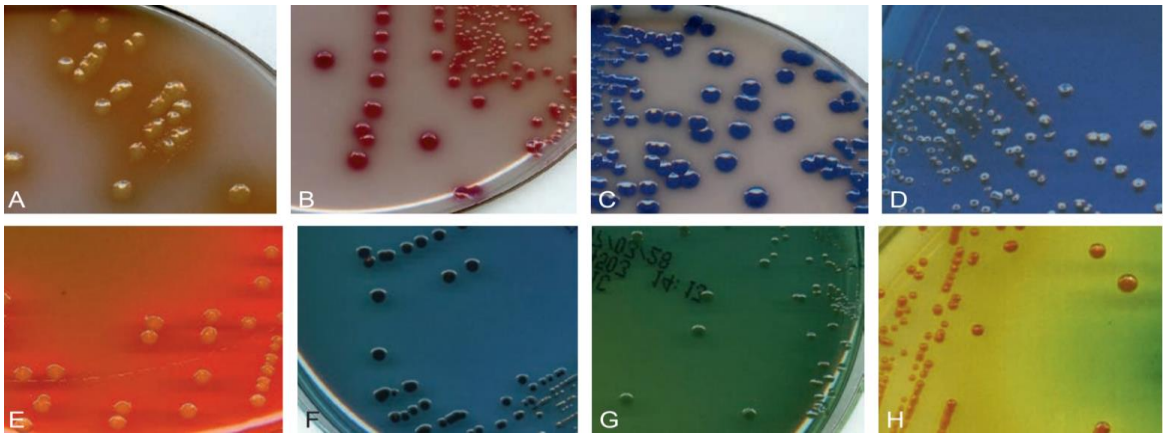


Figure01 : Aspect des cultures des différentes espèces d'entérobactéries sur géloses spéciales.

A. Proteus mirabilis :géloseUriSelect colonies brunes TDA positives. B. *Escherichia coli* :gélose UriSelect, colonies roses β-galactosidase positives. C. *Klebsiella pneumoniae* :gélose UriSelect, colonies bleuesβ-galactosidase positives. D. *Citrobacter freundii* :gélose Drigalski, colonies lactose négatives. E. *Escherichia coli* :géloseHektoen, colonies lactose positives. F. *Salmonella enteritidis* :gélose Hektoen, colonies lactose négatives H2S positives. G. *Shigella flexneri* : gélose Hektoen, colonies lactose négatives. H. *Escherichia coli* : gélose Drigalski, colonies lactose positives **(Denis et al., 2016).**

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, souvent appelée colibacille, est une bactérie appartenant à la famille des entérobactéries. <coliforme fécale>. Elle est largement étudiée en laboratoire en raison de sa plus haut résistance aux effets bactéricides du soleil. Cette espèce est Elle est aussi associée aux déchets animaux ou humains, ce qui en fait un indicateur de contamination fécale récente dans les réseaux d'eau potable. L'une des plus fréquemment impliquées dans les infections humaines. Bien que généralement inoffensive et faisant partie de la flore intestinale normale, certaines souches peuvent être pathogènes et provoquer diverses infection **(Musengele et al .,2024).**

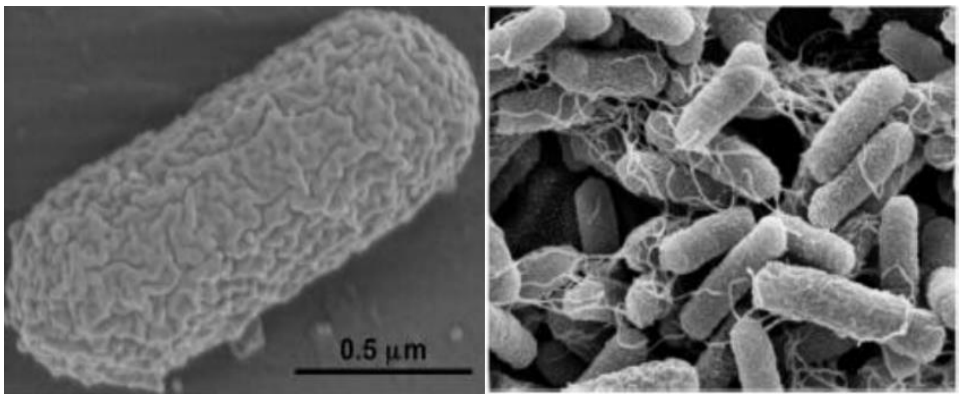


Figure02 : Images au microscope électronique à balayage de bactéries bacillaires *Escherichia coli* **(Vazquez,2018).**

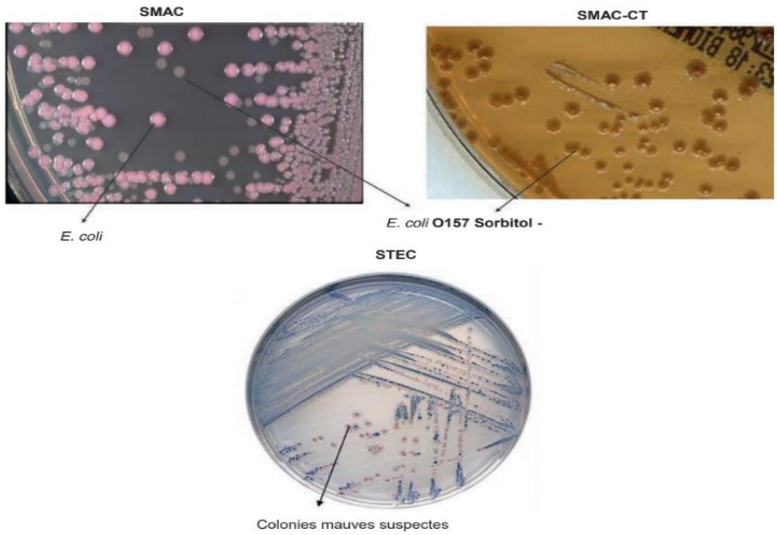


Figure 03: Aspect des colonies d'*E. coli* O157:H7 et des producteurs de shigatoxine (STEC) sur milieux chromogènes **(Mariani-Kurkdjian et al.,2016).**

a) L'habitat :

Principal *d'Escherichia coli* (E. coli) est le tractus gastro-intestinal (TGI) des mammifères. On peut aussi le retrouver, de façon moins fréquente, chez les oiseaux, les reptiles, ainsi que dans des environnements abiotiques comme le sol ou l'eau **(Vazquez,2018).**

b) Les caractéristiques :

Tableau03: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de *E. coli* **(Gillespie et Hawkey,2006 ; Debabza ,2015 ; Balière , 2016 ; Liu et al., 2020).**

Caractères morphologique	Caractères culturaux	Caractères biochimiques	Caractères antigéniques
• Bactérie Gram négatif (Gram-) • Forme de bâtonnet (bacille). • Taille variable selon les conditions de croissance, environ 0,5 µm de diamètre • Non sporulantes • Souvent mobiles grâce à des flagelles périthriches, ou être immobile. • Colonies non pigmentées de 2 à 3 mm, de type "S" smooth : lisses et brillantes • Colonies de type "R" rough : surface sèche et rugueuse • Certaines colonies mucoïdes correspondant à la présence d'une capsule liée aux lipopolysaccharides de la membrane externe	• Croissance rapide à 37 °C, avec un temps de division d'environ 20 minutes • Bactérie non exigeante • Capable de croître sur des milieux ordinaires tels que le milieu TSA (trypticase-caséine-soja). • Culture aisée en laboratoire • Sur milieux lactosés, colonies généralement lactose (+) • Sur gélose au sang, peuvent êtrehémolytiques	• aérobie facultative • Non halophile ✓ négative ; • Oxydase • Inositol. • urée . • TDA. • VP. • gélatinase. • citrate de Simmons. ✓ positifs; • Possède une nitrate réductase • Possède une catalase • Indole. • ONPG. • Mannitol. • Fermentation rapide du lactose. ✓ -Caractères positifs de façon moins constante : • mobilité • LDC. • ODC. • Sorbitol. • production de gaz lors de l'attaque du glucose.	• Antigènes somatiques O : nature lipopolysaccharidique. • Antigènes capsulaires K : nature polysaccharidique. • Antigènes flagellaires H : nature protéique, présents uniquement chez les souches mobiles. • Les souches d'E. coli sont classées en 150 à 200 sérogroupes, déterminés par des antigènes somatiques (O), capsulaires (K), et fimbriaux (F). • Certaines souches ont des antigènes spécifiques (ex. sérotypes O111, O119, O157:H7) liés à leur pathogénicité • Les antigènes de surface (O et H) sont utilisés pour la classification des souches pathogènes.

c) Pouvoir pathogène :

Escherichia coli, souvent désignée sous le terme de colibacille, est une bactérie généralement commensale. Bien que plus de 95 % des souches d'E. coli soient inoffensives et même bénéfiques pour la santé humaine, certaines souches peuvent devenir pathogènes. Ces souches pathogènes sont responsables de diverses infections, telles que des diarrhées, des gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites et des septicémies. Dans certains cas, elles peuvent entraîner des complications graves, voire mortelles, si elles réussissent à contourner les mécanismes de défense naturels de l'organisme **(Musengel et al.,2024).**

2. *Salmonella :*

La salmonelle est une bactérie pathogène entérique appartenant au genre *Salmonella,* La propagation de l'infection à *Salmonella* est associée à un manque d'eau potable, à une mauvaise hygiène et à un mauvais assainissement. Cette bactérie est responsable d'infections gastro-intestinales appelées salmonelloses, souvent transmises par la consommation d'aliments ou d'eau contaminés, notamment dans des conditions d'hygiène et d'assainissement insuffisants, particulièrement dans les pays en développement **(Rabiu et al.,2025).** *Salmonella* se divise en sérovars typhoïdiques et non typhoïdiques (NTS). Les principaux sérovars typhoïdiques sont *Salmonella Typhi* et *Salmonella Paratyphi* A, responsables respectivement de la fièvre typhoïde et de la fièvre paratyphoïde. Ces infections peuvent causer, outre les symptômes digestifs, des complications telles que des manifestations neurologiques, une leucopénie, une septicémie et des réactions immunologiques, qui peuvent parfois être fatales dans les cas graves **(Billahet Rahman,2024).**

a) L'habitat :

L'habitat principal de *Salmonella* est le tube digestif des animaux et des humains, Elle est capable de survivre et de proliférer dans divers environnements comme les eaux usées, le sol et les milieux aquatiques grâce à sa grande adaptabilité écologique **(Rabiu et al.,2025).**

b) Les caractéristiques:

Tableau04: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de *Salmonella* **(Oludairo et al., 2022 ; Billah et Rahman,2024).**

Caractères Morphologie	Caractères culturaux	Caractèresbiochimique	Caractèresantigéniques
• Bacilles (en forme de bâtonnet). • Gram négatif. • Mesurent environ 2-3 µm de longueur sur 0,4-0,6 µm de largeur. • Mobiles grâce à des flagelles péritriches. • Non sporulés.	• Croissance facile sur gélose sang et MacConkey. • Croissance possible sur gélose sulfate de bismuth (BSA), Salmonella-Shigella (SSA) et xylose lysine désoxycholate (XLD). • Fermentent le glucose et le mannose, mais pas le lactose ni le saccharose. • Température optimale de croissance entre 35 °C et 40 °C, croissance possible entre 2 °C et 54 °C selon sérovars et milieux. • Résistants à la déshydratation, aux milieux acides (pH 1 à 4,6), à la chaleur, à l'alcool et aux acides dilués.	• Anaérobies facultatifs • Oxydase négative. • Réduction des nitrates en nitrites positive. • Production typique de sulfure d'hydrogène (H2S). • Fermentation du D-glucose avec production d'hydrogène et dioxyde de carbone. • Négatifs pour la production d'uréase et d'indole (tryptophanase). • Généralement aérogènes sauf Salmonella Typhimurium. • Bêta-galactosidase négative.	• Antigènes somatiques « O » (polysaccharidiques, lipopolysaccharides) : environ 60 antigènes O, représentés par des chiffres. • Antigènes flagellaires « H » (protéines thermolabiles), environ 114 antigènes H, présents en une ou deux phases (phase I et/ou II), représentés par lettres et chiffres. • Certains sérovars produisent antigènes de surface « K » (glucides thermosensibles). • Salmonella Typhi possède un antigène capsulaire/virulence (antigène Vi). • Environ 2 463 sérotypes décrits en 2000, environ 3 000 en 2017, basés sur les réactions d'agglutination des antigènes O et H.

a) Pouvoir pathogène:

Salmonella se divise en deux groupes : les sérovars typhoïdiques (*Salmonella Typhi* et *Paratyphi A*) responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde, qui peuvent entraîner des symptômes neurologiques, une leucopénie, une septicémie et des signes immunologiques, pouvant parfois être mortels dans les cas graves. Les sérovars non typhoïdiques (NTS), comme *Typhimurium* et *Enteritidis*, ont une large spécificité d'hôte et provoquent principalement des gastro-entérites légères à sévères (vomissements, diarrhée, nausées) ou plus rarement une bactériémie (dissémination de l'infection dans l'organisme).Trois manifestations cliniques principales sont associées à la salmonellose : la gastro-entérite, la septicémie et les fièvres entériques.Certainssérovars sont strictement humains (*Typhi, Paratyphi, Sendai*) tandis que d'autres infectent aussi les animaux et contaminent l'homme par les aliments souillés (*Enteritidis, Typhimurium*) **(Billahet Rahman,2024).**

3.*Shigella*

Shigella est une bactérie appartenant à la famille des Enterobacterales, responsable de maladies diarrhéiques. Elle comprend quatre sérogroupes : le groupe A (*Shigella dysenteriae*), le groupe B (*Shigella flexneri*), le groupe C (*Shigella boydii*) et le groupe D (*Shigella sonnei*). Parmi eux, *Shigella flexneri* et *Shigella dysenteriae* sont les principales causes de dysenterie bactérienne dans les pays en développement **(Somda et al.,2025).**

Shigella est un genre de bactéries Gram négatif qui provoque une forte réaction inflammatoire au sein du tractus gastro-intestinal **(Baker et Timothy A. Scott,2023).**

En 1896, une sévère épidémie de dysenterie au Japon a provoqué plus de 90 000 cas avec un taux de mortalité d'environ 30 %. C'est lors de cette crise que *Kiyoshi Shiga* a été isolé pour la première fois la bactérie *Shigella dysenteriae* de type 1, responsable de la dysenterie bacillaire **(Hmar et al,.2024).**

b) L'habitat :

L'homme constitue le seul réservoir connu des espèces de Shigella. La transmission, de type fécale-orale, se réalise par contact direct entre individus, ainsi que par la consommation d'aliments ou d'eau contaminés. Une transmission sexuelle a également été rapportée chez les hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes **(Hmar et al,.2024).** La maladie affecte principalement les pays à revenu faible ou intermédiaire (PRFI) caractérisés par des conditions d'hygiène précaires **(Baker et Timothy A. Scott,.2023).**

c) Les caractéristiques:

Tableau05: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de *Shigella* **(Yassine,2022 ; Hmar et al.,2024 ; Neyaz et al., 2024).**

Caractères Morphologie	Caractères culturaux	Caractères biochimiques	Caractères antigéniques
• Bacille (forme de bâtonnet). • Gram-négatif. • Non mobile. • Non sporulant.	• Milieux peu sélectifs (MacConkey, Eosin méthylène bleu) favorisent l'isolement des espèces fragiles comme S. dysenteriae. • Milieux à sélectivité intermédiaire (XLD) isolent la plupart des Shigella. • Milieux très sélectifs (HE, S–S agar) sont préférés en présence d'une flore de fond élevée. • colonies incolores sur (MAC, SS, HE) • pas de centre noir sur (SS) • Milieux chromogéniques (R&F, HardyCHROMSS,Rainbow) produisent colonies blanches/transparentes avec meilleure différenciation visuelle. HardyCHROM SS est plus spécifique et rapide que MacConkey (MAC) et Hektoen (HE). Rainbow récupère plus de Shigella que (XLD) dans certains aliments.	• Shigella spp. sont biochimiquement moins actifs que d'autres. • Enterobacterales • Facultativement anaérobies. • Ne fermentent pas le lactose. • H2S négatif. • Fermentation variable du d-xylose selon les souches (notamment S. boydii).	• Le genre Shigella comprend quatre sérogroupes (espèces) : • Shigella dysenteriae (séro-groupe A). • Shigella flexneri (séro-groupe B). • Shigella boydii (séro-groupe C). • Shigella sonnei (séro-groupe D). • Les sérogroupes sont subdivisés en plusieurs sérotypes selon la variation de leur antigène O. • Très proches génétiquement d'Escherichia coli.

d) Pouvoir pathogène:

La bactérie Shigella provoque la shigellose, une maladie intestinale aiguë infectieuse, caractérisée par des douleurs abdominales et dysenteries sévères une diarrhée aqueuse souvent accompagnée de sang et de mucus. Cette maladie résulte de l'ingestion d'un faible nombre de bactéries, qui déclenchent une forte réaction inflammatoire dans le tractus gastro-intestinal. Par ailleurs, certains clones spécifiques de Shigella sont devenus une cause notable d'infections sexuellement transmissibles dans certaines populations **(Baker et Timothy A. Scott,.2023).** Particulièrement dangereuse pour les enfants de moins de cinq ans, les personnes âgées et les individus immunodéprimés **(Somda et al.,2025).**

4.Enterobacter

Le genre Enterobacter, qui fait partie de la famille des Enterobacteriaceae, est surtout associé aux infections contractées en milieu hospitalier. Il compte actuellement 22 espèces, mais toutes ne sont pas pathogènes pour l'homme. Les espèces d'Enterobacter sont principalement responsables d'infections nosocomiales, tandis que les infections communautaires qu'elles provoquent sont plus rares **(Ramirez et Giro,2023).**

a) L'habitat:

Le genre Enterobacter est présent dans une grande diversité d'habitats environnementaux. Ces bactéries peuvent être isolées du sol et de l'eau, et elles peuvent vivre en tant qu'endophytes ou agir comme phytopathogènes pour différentes espèces végétales (4). Certaines espèces d'Enterobacter sont couramment utilisées dans des processus de biotransformation ainsi que dans des stratégies de génie métabolique (5, 6). Par ailleurs, ces bactéries font aussi partie du microbiote intestinal naturel des animaux et des humains en tant que commensaux **(Davin-Regli et al.,2019).**

b) Les caractéristiques:

Tableau06: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Enterobacter **(Gillespie et Hawkey,2006).**

Caractères Morphologie	Caractères culturaux	Caractères biochimiques	Caractères antigéniques
• Bacilles Gram négatif mesurant 0,6–1,0 µm de large sur 1,2–3,0 µm de long • Mobiles grâce à des flagelles péritriches • Possèdent des fimbriae de classe 1 • Environ 80 % des isolats sont encapsulés (capsule plus fine que Klebsiella).	• Croissance optimale à 30 °C, mais la plupart des isolats cliniques croissent bien à 37 °C • Croissance facile sur milieux usuels en 24 h • Certaines espèces produisent un pigment jaune diffusible à 20 °C sur gélose.	• Aéro-anaérobies facultatifs. • Fermentent le glucose en produisant acide et gaz. • Test de méthyl red négatif. • Test de Voges-Proskauer positif. • Contenu en GC de l'ADN : 52–60 %	• Enterobacter cloacae possède 53 antigènes O et 56 antigènes H • Capsule contenant certains antigènes K partagés avec Klebsiella (ex : K68, K26, K59) • Présence d'antigène O (somatique), H (flagellaire) et K (capsulaire) selon les souches.

c) Pouvoir pathogène :

Les infections à Enterobacter provoquent principalement des syndromes comme la bactériémie, les infections des voies respiratoires basses, les infections urinaires, les infections des sites chirurgicaux et celles liées aux dispositifs intravasculaires. Plus rarement, elles peuvent entraîner des méningites nosocomiales, des sinusites ou des ostéomyélites.a bactériémie à Enterobacter se manifeste surtout par de la fièvre, une réaction inflammatoire systémique, une hypotension, un état de choc et une élévation des globules blancs. La pneumonie à Enterobacter se traduit par une toux, une dyspnée et des images de consolidation pulmonaire à la radiographie. Les infections urinaires se présentent par des

douleurs à la miction, une fréquence et une urgence urinaires, avec des analyses d'urine montrant des leucocytes ou des nitrites **(Ramirez et Giron,2023).**

5.*Serratia*

Le genre Serratia fait partie de la famille des Enterobacteriaceae, dans la classe des γ-protéobactéries. Il regroupe 16 espèces que l'on retrouve couramment dans des environnements variés tels que l'eau, le sol, les plantes et les animaux. Les espèces sont reconnues : *Serratia entomophila, S. ficaria, S. fonticola, S. grimesii, S. liquefaciens, S. marcescens, S. odorifera, S. plymuthica, S. proteamaculans, S. quinivorans, S. rubidaea et S. ureilytica. Serratia marcescens* est une espèce notable, productrice d'un pigment rouge appelé prodigiosine, responsable d'une coloration rouge sang sur certains aliments. C'est une espèce capable d'infecter aussi bien les plantes que de nombreux animaux. C'est également un pathogène opportuniste chez l'homme, souvent impliqué dans des infections nosocomiales, c'est-à-dire contractées en milieu hospitalier **(Zaheer et al,.2016 ;Van Houdt et al.,2007).**

a) Habitat :

Ces bactéries sont ubiquistes, présentes dans une grande variété d'habitats le sol, l'eau, les plantes, les aliments crus, ainsi que dans le tube digestif de divers animaux et humains. Elles colonisent aussi des environnements hospitaliers, notamment les surfaces humides comme les salles de bains et les dispositifs médicaux **(VanHoudt et al.,2007).**

b) Les caractéristiques:

Tableau07: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de *Serratia* **(Gillespie et Hawkey,2006).**

CaractèresMorphologie	Caractères culturaux	Caractèresbiochimique	Caractèresantigéniques
• Bacilles droits, Gram négatif. • Dimensions : 0,5–0,8 µm de largeur × 0,9–2,0 µm de longueur. • Mobiles par flagelles péritriches (100 à 1000 flagelles) • Certaines formes cellulaires varient selon le milieu (court avec 1-2 flagelles en	• Croissance sur milieux variés, faible besoin nutritionnel. • Température de croissance : 20–35 °C pour production de prodigiosine, croissance possible de 10 à 36 °C. • Colonies mucoïdes régulières pour S. plymuthica, la	• voges-Proskauer positif (sauf 40 % de S. plymuthica). • Hydrolyse du tributyrin. • Production d'enzymes virulentes (DNase, chitinase, lipase, etc.).	• 21 antigènes somatiques (O1–O21). • 25 antigènes flagellaires (H1–H25). • 16–50 % des souches ont le sérotype O14:H12. • S. odorifera possède une microcapsule réactive aux

milieu liquide, allongé avec 10-100 flagelles en milieu solide).	plupart des autres espèces non capsulées. • Colonies rouges (prodigosine) ou avec centre/marge rouge pour certains biogroupes (S. marcescens, S. rubidaea, S. plymuthica). • Odeur caractéristique : poisson/urinaire pour la plupart, musty (moisi) pour S. odorifera et S. Ficaria.	• Anaérobies facultatives, chimio-organotrophes. • Mol % G + C de l'ADN : 52–60 %.	antisérums Klebsiella K4 ou K68.

c) Pouvoir pathogène :

Toutes les espèces de Serratia, à l'exception de *S. entomophila*, sont régulièrement isolées à partir de prélèvements cliniques. *Serratia marcescens* est particulièrement reconnue comme pathogène nosocomial, responsable de pneumonies, d'infections associées aux cathéters, d'infections urinaires, d'ostéomyélites et d'endocardites, avec une aggravation possible due à des résistances multiples aux antibiotiques. D'autres espèces de Serratia peuvent également provoquer diverses infections telles que pneumonie, sepsis, endophtalmie, abcès, infections invasives, sepsis lié à des transfusions, épidémies hospitalières, péritonite et infections de plaies **(Van Houdt et al.,2007).**

6.*Klebsiella*

Les membres du genre *Klebsiella spp*. sont des micro-organismes appartenant à la famille des Enterobacteriaceae **(Cortés-Sánchez et al,.2025).** Six espèces de Klebsiella sont généralement reconnues : quatre d'entre elles sont pathogènes pour l'homme (*Klebsiella pneumoniae, K.oxytoca, K. ozaenae et K. rhinoscleromatis*), tandis que deux espèces, présentes dans l'environnement (*K. terrigena et K. planticola*), sont rarement responsables d'infections **(Debabza.,2015).**

a) L'habitat:

Le genre Klebsiella se trouvent dans divers environnements naturels, incluant le sol, les plantes, les eaux douces et salées, ainsi que les sédiments. Elles font partie du microbiote normal des animaux et des humains, colonisant la peau, les muqueuses, l'épithélium nasal, le tractus gastro-intestinal et les selles. Chez l'humain, le tractus gastro-intestinal constitue un réservoir important pour Klebsiella, ce qui facilite leur transmission, notamment par les personnes manipulant des aliments en milieu communautaire ou hospitalier. Par ailleurs, dans les milieux aquatiques et chez les poissons, *Klebsiella spp.* est considérée comme un agent zoonotique **(Cortés-Sánchez et al,.2025).**

a) Les caractéristiques:

Tableau08: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Klebsiella **(Gillespie et Hawkey,2006; Younis et al.,2016).**

Caractéresmorphologique	Caractéres culturaux	Caractéres biochimique	Caractéresantigénique
• Bacilles droits, Gram négatif. • Taille : 0,3–1 µm de largeur × 0,6–6 µm de longueur. • Non mobiles. • Présence d'une capsule • polysaccharidique épaisse. • Présence de fimbriae (pili). • Groupement en isolés ou en diplobacilles.	• Croissance sur agar sang de mouton et agar MacConkey à 37 °C en 24 à 48 heures. • Fermentation du lactose (milieu MacConkey donne des colonies mucoïdes). • Colonies d'aspect mucoïde (liées à la capsule) . • Colonies : rondes, muqueuses, bombées, translucides, 3-4 mm de diamètre en 18-24 h à 37 °C.	• Décarboxylase de la lysine positive • Hydrolyse de l'urée positive • Catalase positive • Oxydase négative • Production d'indole (variable selon les espèces) • Test de méthyl rouge (variable) • Voges-Proskauer positif • Utilisation du citrate positive • Fermentation du lactose positive • Production de H2S negative • Hydrolyse de l'urée généralement positive • Utilisation du citrate et du glucose comme seules sources de carbone • Klebsiella oxytoca : indole positive, liquéfie la gélatine, dégrade le pectate, utilise gentisate et m-hydroxybenzoate • Fermentation fermentative des sucres, libérant principalement du dioxyde de carbone • Positivité au test ONPG, LDC, VP • ODC négative, ADH négative	• Présence de 77 antigènes capsulaires (antigènes K) conduisant à différents sérogroupes • Expression de l'antigène O (lipopolysaccharide lisse) • Expression de l'antigène K (polysaccharide capsulaire Trois antigènes : • Antigène O (paroi, thermostable, endotoxine) • Antigène H (flagellaire, thermolabile, protéique) – généralement absent car non mobile sauf exceptions • Antigène K (capsulaire, peut masquer antigène O) • ADN G + C : 53–58 %

c) Pouvoir pathogène:

Les infections à Klebsiella ont été observées au niveau des tissus mous et des voies urinaires, ainsi que dans des cas de septicémie, de rhinite atrophique chronique, d'entérite, d'arthrite, de diarrhée et de pneumonie. Elles se manifestent principalement en milieu hospitalier et entraînent une morbidité et une mortalité sévère **(Cortés-Sánchez et al,.2025).**

7. *Citrobacter* .

Les espèces de *Citrobacter*, représente 3 à 6 % de tous les isolats de la famille des Enterobacteriaceae, responsables d'infections nosocomiales **(Jabeen et al.,2023).** Omniprésentes dans l'environnement et faisant partie de la flore intestinale normale, ont longtemps été considérées comme des pathogènes de faible virulence, provoquant moins fréquemment des infections que d'autres Enterobacterales et n'étant pas classiquement reconnues comme pathogènes nosocomiaux. Cependant, ces dernières années, des infections nosocomiales à *Citrobacter spp.* et des épidémies hospitalières, telles qu'une épidémie de *C. freundii* dans une unité de soins intensifs néonatals en Corée ayant causé la mort de quatre nouveau-nés suite à une perfusion intraveineuse contaminée, ont été de plus en plus rapportées **(Fonton et al.,2024).**

a) L'habitat:

Les espèces de Citrobacter vivent en tant que commensaux dans le tractus intestinal des humains et d'autres animaux. Elles ont aussi été identifiées dans les aliments ,l'eau, les eaux usées et le sol **(Liu et al.,2017).**

b) Les caractéristiques:

Tableau09: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques deCitrobacter **(Gillespie et Hawkey,2006 ;Denis et al., 2016;Jabeen et al.,2023).**

CaractèresMorphologie	Caractères culturaux	Caractèresbiochimique	Caractèresantigéniques
• Gram négatif, en forme de bâtonnets, de 1 µm × 2–6 µm. • non sporulées. • Nonencapsulés, mais certaines	• Croissance possible dans des milieux d'enrichissement comme les bouillons au sélénite et au tétrathionate.	• anaérobies facultatives. • Tous fermentent le lactose (certains C. freundii	• Au moins 42 antigènes O, dont un croise avec

souches de C. freundii produisent un antigène capsulaire Vi • Mobiles grâce à des flagelles péritriches • Certains possèdent des fimbriae de classe 1	• Sur gélose Salmonella-Shigella, désoxycholate citrate, ou au vert brillant : colonies n'acidifient pas ou acidifient tardivement le lactose. • Peut produire de l'hydrogène sulfuré, pouvant être confondu avec des salmonelles. • Sur milieu cefsulodine-irgasan-novobiocine (CIN) : majorité des souches forment des colonies à centre rouge et bord translucide, similaires à Yersinia. • Surmilieux Chromogènes détectant la β-D-galactosidase : certainsCitrobacter donnent une réaction positive, pouvant être confondusavec Escherichia coli.	fermentent le lactose tardivement) • Production de H2S dans la partie inférieure de l'agar triple sucre ou Kligler'siron-agar • C. freundii est indole positif	E. coli O157 • 90 antigènes H exprimés • Pourcentage molaire en G + C de l'ADN : 51–52%

c) Pouvoir pathogène:

Les *Citrobacter spp.* sont impliquées dans des infections nosocomiales touchant les voies urinaires, le foie, les voies biliaires, le péritoine, les intestins, les os, les voies respiratoires, l'endocarde, les plaies, les tissus mous, les méninges et la circulation sanguine. Elles peuvent provoquer diverses infections et ont également été responsables de petites épidémies en milieu hospitalier. Chez les nouveau-nés, elles sont associées à des méningites et des abcès cérébraux, et chez les patients ayant subi un traumatisme crânien, des fractures faciales, des interventions neurochirurgicales ou étant immunodéprimés, elles peuvent entraîner des infections du système nerveux central **(Liu et al.,2021).**

8. Yersinia

Le genre *Yersinia*, qui fait partie de la famille des Yersiniaceae (anciennement Enterobacteriaceae), comprend 26 espèces, dont 18 sont connues. Parmi elles, trois espèces sont pathogènes pour l'homme : *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica et Yersinia*

pseudotuberculosis. Ces trois espèces sont également pathogènes pour les humains et animaux. D'autres espèces du genre, *comme Yersinia ruckeri*, infectent principalement les poissons ou les insectes **(Francis et Auerbuch, 2019 ; SEABAUGH etANDERSON 2024).**

a) L'habitat :

Y. enterocolitica et Y. pseudotuberculosis sont libres dans l'environnement **(Francis et Auerbuch,2019).**

Y. pestis est un pathogène obligatoire zoonotique, associé à des réservoirs animaux **(Francis et Auerbuch,2019).**

b) Les caractéristiques:

Tableau10: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Yersinia**(Ioannou et al.,2021; SEABAUGH et ANDERSON, 2024 ; tiqur Rahman et al., 2011 ;ADURA F-2019 ;Grygiel-Górniak, 2025).**

Caractères Morphologie	Caractères culturaux	Caractères biochimique	Caractèresantigéniques
• Bacilles Gram-négatifs • parfoiscoccobacillaire • Non sporulés • Taille : 1 à 3 µm de longueur, 0,5 à 0,8 µm de largeur • Mobilité : • Toutes les espèces sauf Y. pestis sont mobiles entre 22 et 30 °C • Non mobiles à 37 °C	• Croissance possible en conditions aérobies et anaérobies • Milieux : sélectifs et non sélectifs • Température de croissance : entre 0 et 45 °C • colonies punctiformes (<1 mm) en 24h à 28°C ; capable de croître dans un pH de 4 à 10 et en présence de 5 % de sel.	• Anaérobies facultatifs • oxydase négative • catalase positive • Uréase très active chez Y. enterocolitica et Y. pseudotuberculosis, absente chez Y. pestis. • réduit les nitrites ; • Fermentation constante du mannitol, test ONPG positif. • Absence d'utilisation du citrate comme seule source de carbone. • Absence de fermentation du lactose et de production de gaz lors de fermentation du glucose. • Absence de désaminase, lysine-décarboxylase et production de H2S.	• Yersinia enterocolitica est subdivisée en 6 biotypes (1A, 1B, 2, 3, 4, 5) et plus de 60 sérotypes. • Le biotype 1A est non pathogène, tandis que les biotypes 1B, 2, 3, 4 et 5 sont pathogènes pour l'homme. • En Europe, les sérogroupes dominants sont O:3, O:9 et O:5,27. • Le biosérotype 4/O:3 est l'agent causal le plus fréquent de la yersiniose (environ 90 %), suivi par 2/O:9 (environ 7 %). • Yersinia pseudotuberculosis est classée en sérotypes O1 à O14. • Les sérotypes O1 à O5 sont pathogènes et détectés en Europe et en Extrême-Orient. • Les sérotypes O6 à O14 sont isolés uniquement chez des animaux sauvages en Extrême-Orient et jamais dans des échantillons cliniques. • Les antigènes O définissent les sérogroupes et sérotypes des différentes espèces de Yersinia.

c) Pouvoir pathogene :

Yersinia enterocolitica et *Y.pseudotuberculosis* sont responsables de la yersiniose, une infection gastro-intestinale qui se manifeste par (des diarrhées, des douleurs abdominales et de la fièvre), et qui peut entraîner des infections systémiques chez les personnes fragilisées. Elles provoquent des gastro-entérites, une lymphadénite mésentérique ainsi qu'un érythème noueux. Cette infection est fréquente chez les nourrissons et les jeunes enfants et peut être mortelle. *Yersinia pestis* est la cause de la peste bubonique, pulmonaire et septicémique maladie systémique mortelle sans traitement. *Yersinia ruckeri* est un pathogène entérique des salmonidés. Les autres espèces de Yersinia sont majoritairement inoffensives pour l'homme, bien que certaines soient toxiques pour les insects **(Mohammadi ; Francis etAuerbuch 2019 ; SEABAUGH etANDERSON, 2024).**

9. *Proteus-Morganella*.

Les bactéries appartenant au genre Proteus, qui fait partie de la famille des Morganellaceae, se différencient des autres Enterobacterales par une croissance en essaim intense et remarquable sur milieu solide, due à un phénomène de différenciation multicellulaire **(Drzewiecka et al.,2021).** Ce genre comprend actuellement six espèces : *P. mirabilis, P. vulgaris, P. penneri, P. hauseri, P. terrae et P. cibarius* **(Hamilton et al., 2018).**

a) L'habitat

Ces bacilles sont largement présents dans divers environnements naturels ainsi que dans le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux. Ces espèces sont souvent utilisées comme indicateurs de contamination fécale. Elles représentent un risque important pour la santé humaine et animale à l'échelle mondiale, étant fréquemment retrouvées dans les aliments et chez différentes espèces animales **(EL-MAGHRABY et al., 2024).** Qu'elles soient sauvages ou domestiques. Ils constituent également une composante naturelle du microbiote intestinal chez une partie de la population humaine **(Drzewiecka et al.,2021).**

b) Les caractéristiques:

Tableau11: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Proteus-Morganella **(Facciolà et al.,2022 ;Kozlovska, 2023 ; Hamilton et al.2025).**

Caractéristiques morphologiques	Caractéristiques culturelles	Caractéristiques biochimiques	Caractères antigéniques
• Bacilles à Gram négatifs, courts droits. • Taille : 0,4-0,6 µm de largeur sur 1-3 µm de longueur • Mobiles, avec flagelles périthriches • Ne forment pas de spores • Aucune capsule typique détectée (sauf P. mirabilis avec un polysaccharide capsulaire fibreux) • Variabilité des formes, tailles et ultrastructures cellulaires au cours de la croissance • Présentent un dimorphisme cellulaire. • Membrane externe ondulée • Membrane externe et membrane cytoplasmique séparées par un périplasme transparent de 10,6 à 14,3 nm d'épaisseur • Couche de peptidoglycane fine (2-3 nm) entrelacée dans la membrane externe • Membrane cytoplasmique bicouche étroitement adjacente au périplasme • Présence de structures de surface : flagelles, fimbriae, épines, boucles	• Se développent entre 10 et 43°C, optimum vers 37°C • Peu exigeants, croissent sur milieux nutritifs simples (pH 7,2-7,4) • En bouillon viande-peptone : turbidité diffuse, dépôt et film en surface dans les cultures anciennes • Sur milieux solides : • Formes O : colonies rondes et compactes • Formes H : croissance « rampante » (swarming) avec voile bleu fumé progressif • Processus de swarming : différenciation cellulaire de cellules végétatives en cellules rampantes multinoyautées • Migration en surface dense strictement multicellulaire, formant des anneaux concentriques • Ensemencement des cellules rampantes en milieu liquide entraîne différenciation en cellules végétatives • Translocation facilitée par un polysaccharide de surface formant une capsule.	• Anaérobies facultatifs, chimiotrophes organiques • Possède l'enzyme uréase. hydrolysant l'urée en CO2 et NH3. • Ammoniac libre augmente le pH de l'urine. • Production de toxines et de protéases puissantes • Réduction des nitrates en nitrites • Synthèse du polysaccharide capsulaire (CPS) • Hémolysine extracellulaire • Métalloprotéases.	• La structure antigénique est complexe, comprenant des antigènes O, H et,dans certaines souches, K. • Les antigènes somatiques (antigène O) et flagellaires (antigène H) de P. mirabilis et P. vulgaris ont été caractérisés en détail. • L'antigène O est un lipopolysaccharide. • Environ 50 variétés d'antigènes O ont été identifiées. • Environ 20 antigènes H ont été identifiés. • Une méthodologie basée sur les antigènes O permet de déterminer l'affiliation au sérogroupe des souches cliniques.

c) Pouvoir pathogène

sont des bactéries pathogènes opportunistes majeures, pouvant principalement affecter les personnes immunodéprimées et capable provoquer des infections sévère comme.:les infections urinaires compliquées plus fréquemment que d'autres uropathogènes, des infections des plaies et la peau, des bactériémies, des abcès dans divers organes, des infections du système respiratoire, de l'oreille, du nez, ainsi que des méningites chez les nouveau-nés ou les nourrissons **(Drzewiecka et al.,2021 ; EL-MAGHRABY et al.,2024).**

B. Les bacilles gram négatif non fermentative.

Les bacilles gram-négatifs non fermentants (BGNNF) sont des microbes non sporulants qui tirent leur énergie des voies oxydatives, ne pouvant pas fermenter les glucides. Ils ont une faible virulence et causent rarement des infections chez les personnes en bonne santé **(Sushithaet al.,2025).** vivent principalement dans le sol, l'eau ou comme commensaux chez l'homme et les animaux. Mais aussi ils sont opportunistes causent des infections graves et des nosocomiales sévères, notamment chez les patients fragiles (nouveau-nés, personnes âgées, hospitalisé ou immunodéprimés) **(Supyar. et al.,2025).**

1.Acenitobacter.

Le genre Acinetobacter regroupe environ 50 espèces capables de s'adapter à une large gamme de températures et de survivre sur des surfaces inertes. Plusieurs espèces de ce genre peuvent causer des infections,A.baumannii est l'espèce la plus prévalente parmi les agents pathogènes opportunistes, responsable de la majorité des infections nosocomiales **(Lupo et al.,2025).**

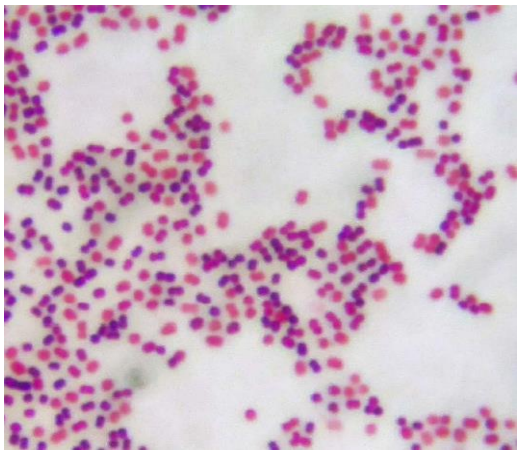


Figure 04 Acinetobacter, coloration de Gram **(Lambert,2016).**

a) l'habitat

Les Acinetobacter spp. sont des bactéries a, largement présentes chez l'homme ainsi que dans divers réservoirs environnementaux tels que l'eau, le sol, les aliments, les arthropodes et le bétail **(He et al.,2025).**

b) Les caractéristiques:

Tableau12: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de Acenitobacter **(Almasaudi,2016).**

Caractèresmorphologique	Caractèresculturaux	caractères biochimiques	Caractères antigéniques
• Bactéries courtes, trapues, bacilles coccoïdes encapsulés en phase stationnaire, mesurant typiquement 1,0–1,5 µm sur 1,5–2,5 µm en phase rapide de croissance. • Présentes en paires (diplobacilles) ou en longues chaînes de longueur variable. • Gram-négatives, mais difficiles à décolorer, pouvant retenir le violet de cristal et être confondues avec des cocci Gram-positifs. • Non mobiles (immobiles), parfois avec une mobilité par saccades due à des fimbriae polaires • Capsule présente chez environ 30 % des souches, identifiable par un halo clair à la coloration de Gram. • Paroi cellulaire typique des bactéries Gram-négatives avec membrane externe et membrane cytoplasmique interne séparées par un espace périplasmique.	• Peu exigeantes, facilement cultivables sur milieux classiques. • Sur gélose au sang : colonies incolores (blanches ou crème), lisses ou mucoïdes (en présence de capsule), laiteuses, de 1 à 2 mm de diamètre après 18–24 h à 37 °C. • Sur gélose éosine-méthylène bleu : colonies bleuâtres à bleu-gris. • Sur gélose Herellea : colonies lavande pâle. • Sur milieu Leeds Acinetobacter : colonies roses sur fond violet. • Sur gélose MacConkey : colonies lavande claire, indiquant une non-fermentation du lactose. • Température optimale de croissance : 33–35 °C. • Non hémolytiques sur gélose au sang.	• Strictement aérobies. • Catalase positives. • Oxydase négatives. • Indole négatives. • Citrate positives. • Ne fermentent pas le glucose mais l'oxydent • non-fermentation du lactose • Beaucoup de souches ne réduisent pas les nitrates en nitrites en milieu complexe. • Contenu en G + C de l'ADN : 39–47 %.	• Présence possible de capsule (antigène capsulaire).

c) Pouvoir pathogène:

Acinetobacter spp. causent des infections graves : bactériémies, pneumonies associées à la ventilation, méningites, infections urinaires, cholangites, péritonites, infections cutanées et des plaies, ventriculites et endocardites infectieuses. Ils peuvent coloniser la peau et les voies respiratoires sans infection, mais une infection survient si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. *A. lwoffii* peut altérer l'architecture de l'épithélium gastrique, induisant une inflammation chronique, une production accrue de cytokines pro-inflammatoires, une prolifération épithéliale, conduisant à gastrite, ulcères gastroduodénaux, voire cancer gastrique. Les infections à Acinetobacter sont fréquentes en milieu hospitalier, notamment en unités de soins intensifs, souvent multirésistantes, associées à des séjours prolongés et une mortalité élevée.A. baumannii est associé à des cas fatals de pneumonie communautaire.*A. haemolyticus* est associé à l'endocardite et à la production de verotoxines provoquant des diarrhées sanglantes **(Doughari et al..2011).**

2. *Pseudomonas*:

Le genre *Pseudomonas*, appartenant aux Gammaprotéobactéries, regroupe plus de 60 espèces aux modes de vie variés, Ces bactéries sont connues pour leur ubiquité, leur capacité à utiliser une large gamme de composés organiques comme sources d'énergie **(Gross et Loper,2009).** Elle se caractérisent par sa grande capacité à coloniser différentes niches écologiques, mais aussi par sa résistance aux antimicrobiens et sa pathogénicité, causant des maladies chez l'homme, les animaux ou les plantes. *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce la plus prédominante. Ce pathogène opportuniste joue un rôle majeur chez l'humain et gagne en importance tant dans le domaine médical que vétérinaire **(Ruiz-Roldán et al.,2021).**

a) L'habitat:

Les Pseudomonas sont présents dans une variété d'environnements, tels que le sol, les milieux aquatiques, les surfaces végétales et les animaux **(Gross et Loper,2009).**

b) Les caractéristiques:

Tableau13: Caractéristiques morphologiques, culturale, biochimiques et antigéniques de *Pseudomonas* **(Wang et al., 2025).**

Caractèresmorphologiques	Caractères culturaux	Caractères biochimiques
• Bactéries Gram-négatives. • Forme de bâtonnets. • Non sporulantes. • Psychrotrophes (capables de se développer à des températures inférieures à 7 °C, plage de 0 °C à 40 °C).	• Multiplication rapide. • Adaptation à la croissance à basse température. • Présentes dans les produits aquatiques réfrigérés.	• Aérobiesobligatoires. • Capacité de dégradation des protéines en acides aminés. • Forte capacité de décomposition. • Capacité à absorber et métaboliser les acides aminés libres (exemple de P. Malodorata).



Figure 05: *Pseudomonas* observée au microscope électronique avec un grossissement de 15 000 fois (Denis et al., 2007).

c) Pouvoir pathogène

Le genre *Pseudomonas* regroupe des bactéries comprenant des agents pathogènes importants pour les plantes, des bactéries responsables de la détérioration des aliments, ainsi que des pathogènes opportunistes chez les animaux et les humains. Parmi elles, l'espèce la plus cliniquement significative est *Pseudomonas aeruginosa*, un pathogène opportuniste humain fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales, les infections des brûlures, et la pneumonie chez les patients atteints de mucoviscidose **(Bloomfield et al.,2024).**

Chapitre 2 : Les antibiotiques et l'antibiorésistance

1. Définition des antibiotiques et des antimicrobiens

Les antibiotiques sont des substances d'origine biologique (produites naturellement par des micro-organismes comme les champignons microscopiques ou certaines bactéries) ou obtenues par synthèse chimique. Leur rôle principal est d'inhiber sélectivement la croissance ou de détruire d'autres micro-organismes, notamment les bactéries ; par exemple :

- **La pénicilline** : extraite du champignon *Penicillium notatum*, est un antibiotique naturel.
- **Le chloramphénicol** : quant à lui, est un antibiotique obtenu par **synthèse chimique**.

Sur le plan étymologique, le terme **"antibiotique"** (du grec *anti* = contre, *biotikos* = relatif à la vie) désignait à l'origine une substance naturelle produite par un micro-organisme capable d'en détruire un autre. Toutefois, dans l'usage courant, ce terme est aujourd'hui étendu aux substances semi-synthétiques (ex. : amoxicilline, amikacine) et synthétiques (ex. : sulfamides, quinolones), bien qu'elles ne soient pas strictement « antibiotiques » au sens classique.

D'une manière plus générale, les antimicrobiens (du grec *anti* = contre, *mikros* = petit, *bios* = vie) regroupent toutes les substances capables d'agir contre les micro-organismes : bactéries, champignons, virus ou parasites.

Les antibiotiques sont définis selon plusieurs critères :

- ✓ Leur **spectre d'activité** (large ou ciblé, Gram + / Gram –) ;
- ✓ Leur **toxicité sélective**, c'est-à-dire leur capacité à cibler spécifiquement les bactéries sans nuire aux cellules humaines ;
- ✓ Leur **pharmacocinétique** (absorption, diffusion, métabolisme, élimination dans l'organisme) **(Yala et al.,2001; Muylaert et Mainil, 2012).**

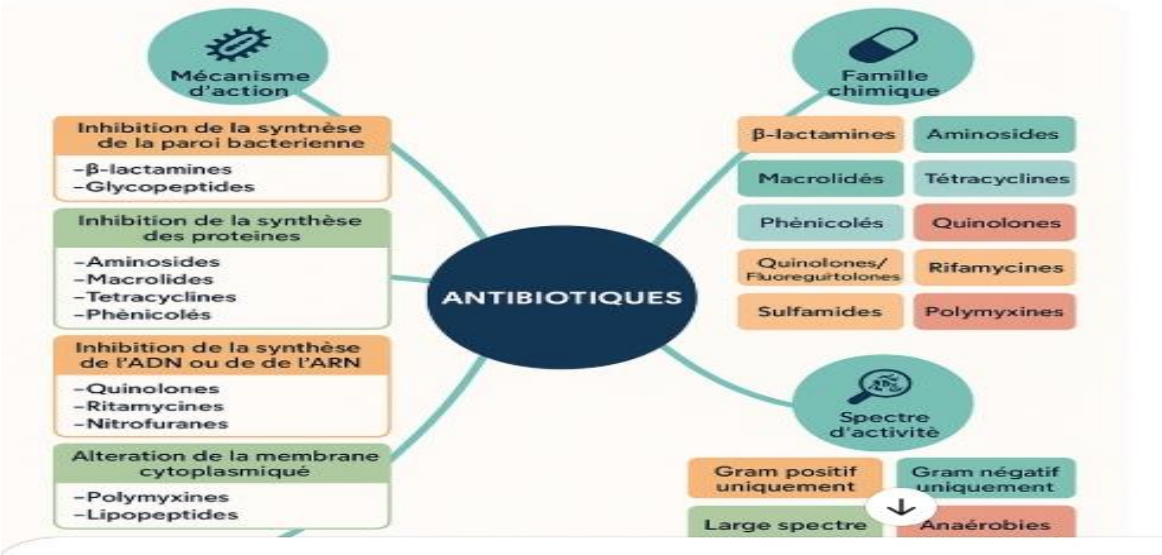


Figure 06 : les principaux critéres de classification des antibiotiques **(Francois, 2003)**

Le tableau (12) décris la classification des antibiotiques selon leur mécanisme d'action et les classes principales :

Tableau 14: Classification des antibiotiques **(Yala et al .,2001).**

Mécanisme d'action	**Classes principales**	**Exemples**
Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	- β-lactamines - Glycopeptides	Pénicillines, Céphalosporines, Carbapénèmes, Vancomycine
Inhibition de la synthèse des protéines	-Aminosides - Macrolides - Tétracyclines - Phénicolés	Gentamicine, Érythromycine, Doxycycline, Chloramphénicol
Inhibition de la synthèse de l'ADN ou de l'ARN	- Quinolones - Rifamycines - Nitrofuranes	Ciprofloxacine, Rifampicine, Nitrofurantoïne
Inhibition de la synthèse des folates (antimétabolites)	- Sulfamides - Triméthoprime	Cotrimoxazole (Sulfaméthoxazole + Triméthoprime)
Altération de la membrane cytoplasmique	- Polymyxines - Lipopeptides	Colistine, Daptomycine

2 . La résistance bactérienne

La résistance bactérienne aux antibiotiques désigne la capacité d'une souche bactérienne à survivre et à se multiplier malgré l'action d'un antibiotique administré à des concentrations habituellement efficaces. Il s'agit d'un concept relatif, qui peut être défini selon différents critères : microbiologiques, cliniques, génétiques ou biochimiques. Sur le plan microbiologique, une souche est dite résistante lorsqu'elle présente une concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à celle qui inhibe la croissance de la majorité des autres souches de la même espèce. Cette évaluation est faite in vitro, par comparaison avec une souche sauvage de référence, cultivée dans les mêmes conditions expérimentales. Les seuils de sensibilité, d'intermédiaire ou de résistance sont fixés par des organismes de normalisation comme le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ou l'EUCAST. D'un point de vue clinique, une bactérie est considérée comme résistante lorsque le traitement antibiotique administré in vivo échoue à éliminer l'infection. Cette résistance clinique dépend de nombreux facteurs : la localisation de l'infection, le mode d'administration, le dosage, la pharmacocinétique/pharmacodynamie de l'antibiotique, ainsi que l'état immunitaire du patient. Dans certains cas, même une souche sensible in vitro peut être cliniquement résistante si l'antibiotique n'atteint pas le site infectieux (comme dans des abcès enkystés, des zones à pH acide, ou à faible oxygénation) **(Sylvie , 2009 ; Muylaert. et Mainil. , 2012).**

3 . Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance

-L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques résultent de deux phénomènes principaux : La pression sélective exercée par les agents antimicrobiens et la transmission de micro-organismes résistants entre individus

-L'exposition répétée à un antibiotique favorise la survie des souches résistantes présentes dans une population bactérienne.

-Si une mutation spontanée confère une résistance à un antibiotique, ce dernier élimine les bactéries sensibles, permettant ainsi la sélection et la multiplication de la souche mutante résistante, qui devient progressivement prédominante.

-En l'absence de mesures rigoureuses de prévention des infections (comme une hygiène des mains inadéquate), les clones résistants peuvent se propager d'un patient à l'autre,

entraînant :une éclosion monoclonale ou oligoclonale (bactéries résistantes identiques ou présentant peu de variantes génétiques)

-En revanche, une pression de sélection continue exercée par les antibiotiques dans l'environnement hospitalier ou communautaire peut conduire à :une épidémiologie polyclonale, caractérisée par la présence de multiples clones résistants issus de différentes mutations.

-La réduction de la pression sélective antibiotique est donc essentielle pour : Prévenir l'émergence de nouvelles résistances et préserver l'efficacité des antibiotiques encore actifs

-Des schémas illustrent : Le mécanisme de sélection de la résistance après mutation et l'interaction entre la pression antibiotique et la transmission interhumaine dans la dissémination des souches résistantes **(Sylvie , 2009).**

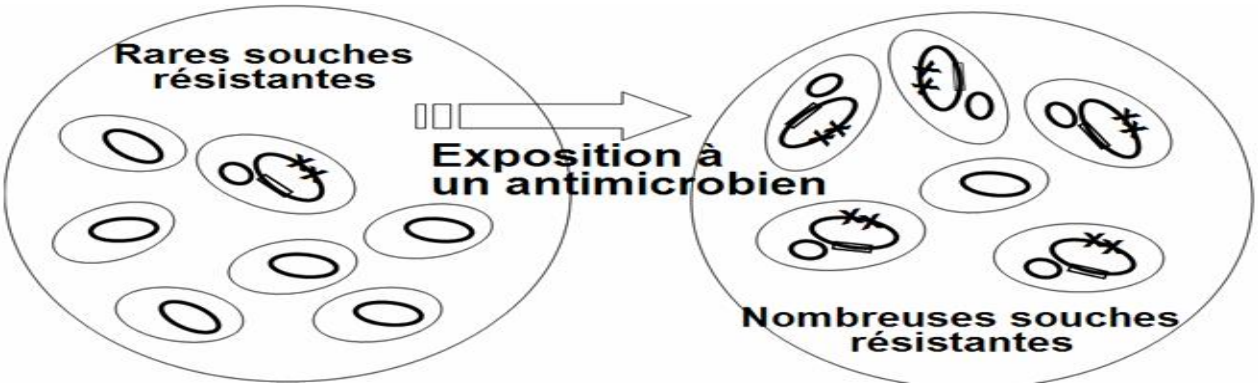


Figure 07: Sélection de souches résistantes aux antimicrobiens **(Sylvie, 2009)**

4 . Types de la résistance bactérienne :

4.1Résistance naturelle (intrinsèque)

Est propre à une espèce bactérienne et liée à la présence de gènes chromosomiques spécifiques. Elle peut être exprimée de manière constitutive ou induite, et résulte de particularités structurales (comme la membrane externe des bactéries à Gram négatif) ou métaboliques (comme chez *Mycobacterium tuberculosis*). Elle est stable, transmise verticalement, mais non transférable entre espèces**.(Bouyahya et al., 2017; Sylvie . ,2009).**

4.2Résistance acquise

Elle est liée à des modifications du profil d'expression génique, résultant de mutations ponctuelles ou de l'acquisition de gènes. Ce processus permet aux bactéries d'échanger du

matériel génétique entre elles, ce qui leur confère une grande capacité d'adaptation aux environnements qu'elles occupent. **(Bouyahya et al ., 2017).**

5 . Mécanisme de résistance chez les les bactéries à Gram négatif

Huit mécanismes de résistance sont mis en cause chez les bactéries à Gram négatif (Figure)

L'absence de porines, qui limite le passage de l'antibiotique à travers la membrane cellulaire.

La présence de β-lactamases dans l'espace périplasmique, responsables de la dégradation des β-lactamines.

certains étant induits par un plasmide. Ces mécanismes comprennent :

La surexpression des pompes d'efflux membranaires, qui expulsent l'antibiotique hors de la bactérie avant qu'il n'agisse.

La production d'enzymes modifiant les antibiotiques, rendant ces derniers incapables d'interagir avec leur cible.

Des mutations au niveau de la cible, empêchant l'antibiotique de se fixer à son site d'action.

Des modifications ou mutations ribosomiques, qui bloquent également la fixation de l'antibiotiqu à sa cible.

Des mécanismes de contournement métabolique, permettant à la bactérie d'utiliser une enzyme alternative insensible.

Des mutations (Peleg et Hooper, 2010).

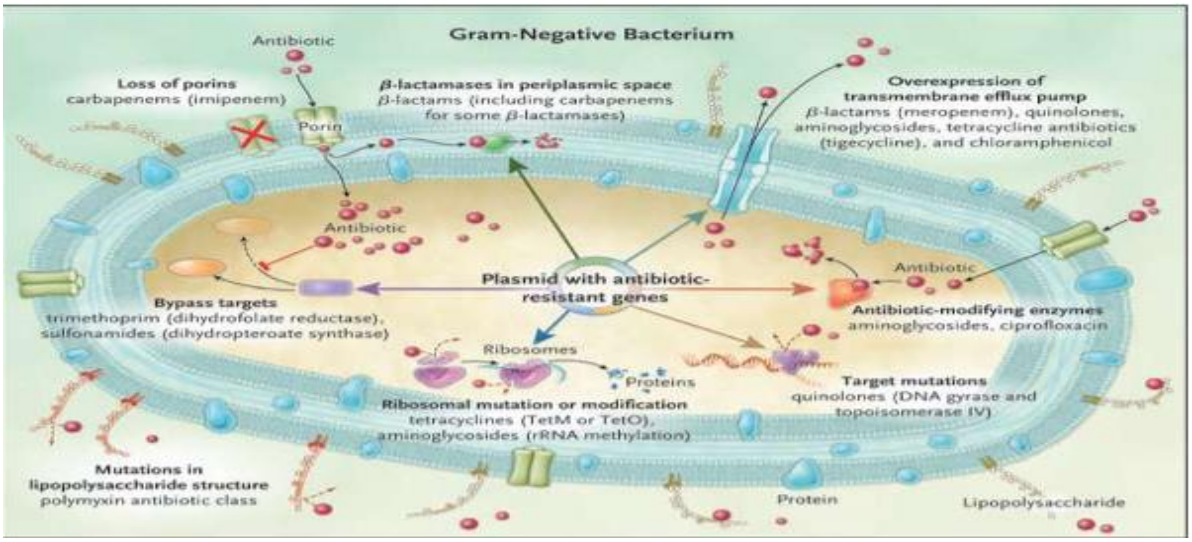


Figure 08 : Mécanismes de résistance des bactéries Gram-négatives, et les antibiotiques touchés **(Peleg et Hooper, 2010)**

6 . Phénotype de résistance

Il s'agit de la démonstration de la résistance d'une souche face à divers antibiotiques appartenant à la même famille ou à des familles distinctes. L'utilisation appropriée des antibiotiques testés peut parfois d'identifier le mécanisme de résistance et/ou le génotype associé au phénotype observé. L'examen du phénotype de résistance est suggéré pour déterminer certainessouches bactériennes à l'origine d'infections nosocomiales **(Bathily, 2002)**

7 . Résistance des bactéries Gram négatif multirésistants non fermentaires aux antibiotiques

Résistance des BGNnF aux antibiotiques

7.1 Multirésistance chez *P. aeruginosa*

On décrit généralement la multirésistance chez P. aeruginosa comme la capacité de résistance ou la réduction de sensibilité à au moins trois classes d'antibiotiques actifs sur les souches sauvages : (1) β-lactamines autres que les carbapénèmes (pénicillines, céphalosporines et monobactames) ; (2) carbapénèmes ; (3) fluoroquinolones et (4) aminosides **(Barbier et Wolff, 2010.)**

7.1.1 Résistance aux antibiotiques aminosides

Généralement, la résistance aux aminosides est associée à l'obtention d'enzymes inactivatrices (comme AAC(6')-I et APH(3')-II) et/ou à un efflux actif (MexXYoprM).

L'obtention de diverses enzymes peut offrir une résistance croisée contre tous les aminosides. Les résistances de haut niveau sont de plus en plus rares grâce à l'obtention de méthylases (transférase ribosomique de méthyle ou Rmt) de l'ARNr 16S, qui est la cible de ce groupe d'antibiotiques. **(Barbier et Wolff, 2010.)**

7.1.2 Résistance à la ciprofloxacins

La ciprofloxacine est la fluoroquinolone la plus efficace contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) modales comprises entre 0,125 et 0,25 mg/l, inférieures à celles observées pour la lévofloxacine, et nettement inférieures à celles de l'ofloxacine (1 à 2 mg/l) .

A ce jour, les gènes plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones (Qnr et AAC(6')-Ib-cr), identifiés chez les *Enterobacteriaceae*, n'ont pas été détectés chez *P. aeruginosa*.

Dans cette espèce, la résistance à la ciprofloxacine est uniquement d'origine chromosomique . Elle résulte de mutations touchant les gènes des topoisomérases II (gyrA) et IV (parC), et/ou ceux impliqués dans la régulation des systèmes d'efflux.

Les mutations du gène gyrA peuvent à elles seules conférer une résistance de haut niveau. Les systèmes d'efflux actif, pour leur part, induisent une résistance de faible niveau, sauf en cas d'hyperexpression combinée à des mutations de gyrA et/ou parC. **(Barbier. et Wolff., 2010.)**

7.1.3 Résistance aux β-lactamines chez Pseudomonas aeruginosa

7.1.3.1 Céphalosporinase chromosomique (ampC)

P. aeruginosa produit naturellement une céphalosporinase inductible codée par le gène ampC, régulé par ampR et ampD.Chez les souches sauvages, cette enzyme est faiblement exprimée.

Son expression peut être fortement induite par certaines β-lactamines (imipénème, acide clavulanique, céphamycines), ce qui conduit à une résistance aux pénicillines, céphalosporines anti-Pseudomonas et à l'aztréonam seuls les carbapénèmes restent actifs. Chez les souches PAMR (P. aeruginosa multirésistantes), ampC est souvent surexprimé de façon constitutive (dérépression par mutations de ampC ou ampD), entraînant une résistance similaire.

-Fréquence de sélection des mutants hyperproducteurs sous traitement : 15–50 % -Conséquence clinique : risque élevé d'échec thérapeutique, parfois non évité même avec une association à un aminoside. **(Barbier. et Wolff.M, 2010.)**

7.1.3.2 β-lactamases acquises

P. aeruginosa est l'une des bactéries pathogènes ayant la plus grande diversité de β-lactamases acquises, souvent plasmidiques.

Classe A (sérine-β-lactamases) : Fréquentes : Groupe PSE (CARB) → pénicillinases à spectre étroit (hydrolysent carboxy- et uréido-pénicillines). Inactives sur : céphalosporines, aztréonam, carbapénèmes. BLSE de classe A : Groupes PER (courant), GES, VEB, IBC (occasionnels). TEM, SHV, CTX-M (courants chez les entérobactéries) : rares chez P. aeruginosa. En général, ces enzymes n'hydrolysent pas les carbapénèmes (exceptions rares comme GES-2). -Classe B (métallo-β-lactamases) : Ex. : VIM, IMP Hydrolysent toutes les β-lactamines, y compris les carbapénèmes, sauf aztréonam. Diffusion mondiale alarmante chez les souches multirésistantes.

-Classe D (oxacillinases, blaOXA) : Présentes chez certaines PAMR Peuvent avoir un spectre BLSE.**(Barbier. et Wolff., 2010.)**

7.2 Chez acinetobacter baumanni

Résistance aux aminosides : L'antibiorésistance d'A. baumannii aux aminosides est principalement due à l'inactivation de l'antibiotique par des enzymes modifiant sa structure : APH (3')-I, APH (6), AAC (3)-I, ANT (2'')-I et APH (3')-IV. Comme mentionné plus tôt, A.baumannii possède un mécanisme d'efflux qui lui confère une résistance à plusieurs catégories d'antibiotiques, y compris les aminosides. **(Bergogne-Bérézin et Dellamonica, 1999).**

7.2.1 Résistance aux β-lactamines

7.2.1.1 résistance naturelle

Les souches d'A. baumannii génèrent une β-lactamase chromosomique de classe C, résistante au clavulanate. Cette enzyme hydrolyse de préférence le C1G, mais ne montre aucune activité envers les pénicillines et la pipéracilline**(Sougakoff et Trystram, 2003).**

7.2.1.2 Résistanace acquise

Classe C Céphalosporinase A. baumannii génère naturellement une céphalosporinase de type AmpC généralement exprimée à faible niveau, qui n'impacte pas l'efficacité des

céphalosporines à large spectre. spectre (céfalotine) ou des carbapénèmes.**(Nordmann et al., 2009).**

β-lactamases métallo de la classe B Les β-lactamases de classe B nécessitent un atome de zinc pour décomposer les β-lactamines et elles sont inhibées par l'EDTA. On a identifié plusieurs groupes chez A. baumannii, cette Cette classe d'enzymes hydrolyse toutes les β-lactamines sauf les monobactames.**(Clavilier et al., 2001).**

β-lactamases à spectre élargi Chez A. baumannii, les BLSE sont soit chromosomiques ou plasmidiques. Les enzymes du type GES et PER, VEB et IBC-2, ont été largement retrouvées chez A. baumannii, Les enzymes du type VEB hydrolysent de préférence la ceftazidime et l'aztréonam **(Rodriguez Villalobos et Struelens, 2006).**

Surexpression du système d'efflux. A. baumannii est dotée d'une pompe à efflux AdeABC, constituée des protéines AdeA, AdeB et AdeC. Ses substrats comprennent : les aminosides, les tétracyclines, l'érythromycine, le chloramphénicol, le triméthoprime, les fluoroquinolones, les bêta-lactamines et plus récemment la tigécycline. **(Wieczorek et al., 2008).**

Modification de l'expression des PLP L'étude des modifications des protéines qui lient les pénicillines (PLP) et qui sont à l'origine de la résistance aux carbapénèmes chez A. baumannii a été très peu fréquente, mais il apparaît que la Il est possible que la régulation de l'expression des PLP soit liée à une réduction de la sensibilité aux carbapénèmes. **(Fernandez-Cuenca et al., 2003).**

8. Résistance chez les entérobactéries

8 .1 La résistance aux aminosides

Les principales mécanismes de résistance des entérobactéries aux aminosides impliquent l'action d'enzymes pouvant coexister simultanément : les phosphotransférases (APH), les acétyltransférases (AAC) et les nucléotidyltransférases (ANT). Le recours à cinq antibiotiques Neuf phénotypes principaux de résistance sont identifiés grâce à l'utilisation de marqueurs **(Fauchère, 1997).**

Tableau 15: Phénotypes de résistance des entérobactéries aux aminosides **(Fauchère, 1997)**

Phénotypes	K	TOB	AN	GM	NET
Sauvage	S	S	S	S	S
APH (3')	R	S	S	S	S
AAC (3)-I	S	S	S	S/I/R	S
AAC (3)-II	S/I/R	R	S	R	I/R
AAC (6')	S/I/R	I/R	S/I/R	S	I/R
ANT (2'')	S/I/R	I/R	S	I/R	S
AAC (2')	S	S/I/R	S	S/I/R	S/I/R
APH (3') + AAC (3)	R	S	S	S/I/R	S
AAC (6') + AAC (3)-I	I/R	R	S/I/R	S/I/R	I/R

K: kanamycine, TOB: tobramycine, AN: Amikacine, GM: gentamicine, NET: nétilmicine. Les mécanismes AAC (6') et AAC (3)-II sont très fréquemment associés à une BLSE. Leur détection est une raison majeure de rechercher une BLSE **(Fauchère, 1997)**

8.2 La résistance aux quinolones

La résistance des entérobactéries aux quinolones de première génération (acide nalidixique, acide pipémidique) ainsi qu'aux fluoroquinolones (péfloxacine, norfloxacine, ofloxacine et ciprofloxacine) est principalement liée à des modifications de leur cible, l'ADN gyrase. Cette résistance est croisée entre l'ensemble des quinolones et progresse par l'accumulation de mutations chromosomiques successives. L'acide nalidixique est atteint en premier, suivi de la péfloxacine et de la norfloxacine, puis de l'ofloxacine et enfin de la ciprofloxacine. Cette évolution progressive des niveaux de résistance est fréquente et peut apparaître lors d'un traitement prolongé par une quinolone en monothérapie. L'antibiogramme doit permettre d'évaluer le niveau de résistance de la souche testée. Il est donc nécessaire de tester l'acide nalidixique, la péfloxacine ou la norfloxacine, l'ofloxacine et/ou la ciprofloxacine. Plusieurs niveaux de résistance aux quinolones ont été décrits**.(Fauchère, 1997).**

Tableau 16: Phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones **(Fauchère, 1997)**

Marqueurs	NalS	NaIR	PefR	CipR
Acide nalidixique	S	R	R	R
Pefloxacine	S	S	R	R
Ciprofloxacine	S	S	S	R

NAL: acide nalidixique, PEF: péfloxacine, CIP: ciprofloxacine.

8.3 La résistance aux β-lactamines

8.3.1 résistance non enzyamatique

8.3.1.1 Diminution de la perméabilité

Les entérobactéries présentent une résistance naturelle aux molécules hydrophobes et de masse moléculaire élevée, telles que les pénicillines. Des résistances acquises ont été observées chez *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Enterobacter*, en lien avec une diminution de la perméabilité de la paroi due à une altération, quantitative ou qualitative, des porines **(Ramoul, 2013).**

8.3.1.2 Hyperproduction de système d'efflux

L'exportation active est un processus de résistance de certaines bactéries aux antibiotiques, effectué par des transporteurs membranaires nommés pompes d'efflux. Dans les bactéries à Gram négatif, il est fréquent que les systèmes d'efflux soient des complexes protéiques.

Des ternaires impliquant une pompe transmembranaire, une protéine de jonction périplasmique et une porine de la membrane externe **(Yassine, 2011).**

8.3.1.3 Modification des protéines liant la pénicilline (PLP)

Les PLP constituent les cibles naturelles des β-lactamines. Chez les entérobactéries, certaines souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème ont été identifiées en raison d'une perte d'affinité de la PLP 2, accompagnée d'une diminution de sa quantité. Ce mécanisme de résistance reste cependant très rare chez les entérobactéries **(Faure, 2009).**

8.3.2 Résistance enzymatiqu

8.3.2.1 Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE)

Les BLSE sont classiquement définies comme des enzymes appartenant à la classe A ou D selon la classification d'Ambler, avec un support génétique pouvant être plasmidique ou chromosomique **(Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).** Elles sont capables d'hydrolyser les oxyimino-céphalosporines (C3G et C4G) ainsi que les monobactames, mais restent inefficaces contre les céphamycines (C2G) et les carbapénèmes. Ces enzymes sont inhibées par des inhibiteurs de β-lactamases tels que l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam **(Peirano et Pitout, 2010 ; Elmeskini, 2011 ; Sefraoui, 2015).** Sur la base de leur séquence en acides aminés, elles ont été réparties en 11 familles distinctes **(Vidon et Bourdin, 2005),** dont les quatre principales sont représentées par les enzymes des types TEM, SHV, OXA et CTX-M**(Gniadkowski, 2001 ; Illiaquer, 2010)**

8.3.2.2 Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique de classe C (céphalosporinase de haut niveau)

se manifeste par une résistance à la majorité des β-lactamines, à l'exception des carbapénèmes (Eyquem et Montagnier, 2000). Une certaine activité des céphalosporines à large spectre, comme le céfépime ou le cefpirome, peut toutefois être conservée. Ce phénotype est principalement observé chez les bactéries possédant naturellement une céphalosporinase de type ampC, qui peut alors être surexprimée, notamment chez *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* et d'autres entérobactéries apparentées **(Gueudet et al., 2010).**

8.3.2.3 Les carbapénémases

Les carbapénèmes sont actuellement l'un des traitements privilégiés pour les infections sévères dues aux entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE). Cependant, leur efficacité pourrait être remise en cause par l'émergence de souches bactériennes également résistantes à ces antibiotiques **(Gulmez et al., 2008)**. Chez les entérobactéries, cette résistance repose principalement sur divers mécanismes **(Livermore et Woodford, 2006).**

Acquisition des métallo--lactamases (VIM, IMP): Ces enzymes, classées dans la classe B

selon Ambler, hydrolysent l'ensemble des β-lactamines à l'exception de l'aztréonam . Leur activité est inhibée par l'ajout de chélateurs d'ions bivalents. Il s'agit de métalloprotéines, pouvant être d'origine chromosomique ou plasmidique **(Safraoui, 2015).**

La Partie expérimentale

1. Cadre d'étude

Notre étude a été menée sur une période allant d'avril à juin 2025. Elle s'est déroulée au laboratoire central de l'EPH de Médéa, et a porté sur l'analyse microbiologique d'échantillons prélevés dans l'environnement hospitalier, au sein de différents services : urgences, salles de soins, réanimation, néonatologie, dialyse, pneumo-phtisiologie, médecine interne (hommes et femmes), traumatologie (hommes et femmes), chirurgie hommes, neurologie, maternité et néonatologie.



Figure 09:l'EPH de Médéa**(photo personnelle, 2025).**

2. L'objectif

L'objectif principal de cette étude expérimentale est de caractériser les bacilles à Gram négatif multirésistants isolés de l'environnement hospitalier, à travers une approche phénotypique et génotypique.

D'un côté, une identification bactériologique phénotypique a été réalisée à partir de prélèvements effectués sur des surfaces humides et sèches dans différents services hospitaliers, en utilisant des milieux de culture sélectifs et différentiels, suivie d'un antibiogramme pour déterminer les profils de résistance.

- D'un autre côté, une approche moléculaire basée sur la PCR a été mise en œuvre afin d'identifier certains gènes de résistance, complétant ainsi l'analyse phénotypique par une caractérisation génotypique plus précise.

Profils de Résistance aux Antibiotiques

Souches Testées (Total = 8) :

- ✓ Escherichia coli : 2 souches
- ✓ Klebsiella spp. : 3 souches
- ✓ Pseudomonas spp. : 3 souches

Systèmes de Résistance Évalués :

- ✓ Qnr (quinolones), TET (tétracyclines), AAC (aminosides).

3. Matériels

1) Verrerie

- Béchers 500 ml ;
- Erlenmeyre 500ml ;
- Flacons stériles 180 ml avec bouchon à vis métallique ;
- Verre de montre ;
- Lames et lamelles ;
- Eprouvette500ml;
- Pipettes Pasteur ;
- Tubes à essai ;

2) Outils

- Ecouvillons ;
- Bec bunsen ;
- Boites de Pétri ;
- Pince ;
- Portoirs ;
- Spatule ;
- Poire a pipette ;
- Bain-marie ;
- tube Eppendorf ;
- barrettes

3) Appareillage

- Autoclave 120°C ;
- Balance électrique;
- Etuve électrique à 37°C ;
- Microscope optique Zulu objectifs (X10, X40, X60, X100) ;

- Plaque chauffante ;
- Réfrigérateur (-20°C à 5°C) ;
- Vortex
- agitateur
- Le thermocycleur ;
- Electrophorèse ;
- lesmicropipettes ;
- thermo-agitateur
- centrifuger.

4) Réactifs et autres substances

- Colorants de Gram (Violet de Gentiane, Lugol, Fuchsine) ;
- Disques d'antibiotiques ;
- Disque d'oxydase ;
- Eau distillée stérile ;
- Eau physiologique ;
- Ethanol 95% ;
- Huile de vaseline ;
- buffer B
- Mg cl2
- HOT FIRE
- GC rich
- dNTP
- d'eauultra-pure
- amorcesForward et Reverse.

5) Milieux de culture

- Bouillon BHIB (BHI, Brain Heart Infusion Bouillon) :
- Gélose nutritive (GN) ;
- Gélose MacConkey ;
- Gélose Hektoen ;
- Gélose Mueller-Hinton ;
- Gélose Chromagar ;
- Glycérol

- EDTA
- NaOH (hydroxyde de sodium)
- Tris
- HCl
- Agarose
- SYBR Safe

4. Méthodes

4.1 Lieu et période d'étude

Les prélèvements ont été effectués sur différents types de sites :

- Surfaces sèches : tables de soins, paillasses, lits, oreillers, tables à manger, rideaux, draps, armoires, bureaux, chaises, couveuses, fenêtres, murs, sols, corbeilles, blouses, réfrigérateurs, potagers.
- Surfaces humides : lavabos, siphons, robinets.
- Matériel médical : ECG, tensiomètres, masques à oxygène, sondes, stéthoscopes, chariots de médicaments, supports de sérum, ciseaux, eau.

Les analyses microbiologiques ont été réalisées au niveau de l'unité de bactériologie du laboratoire central de l'EPH, tandis que les manipulations moléculaires ont été effectuées au laboratoire de biologie de l'université de la wilaya de Médéa.

Au total, 261 échantillons ont été analysés dans le cadre de ce travail.



Figure10 :des Prélèvementsavec écouvillons dans l'environnement hospitalie **(photo personnelle, 2025).**

4.2 Préparation des milieux de culture

- On mesure 2 500 mL d'eau distillée stérile à l'aide d'une éprouvette graduée de 500 mL (répété 5 fois).
- On verse l'eau dans un bécher ou un erlenmeyer.
- On ajoute la poudre de gélose nutritive déshydratée dans l'eau.
- Un barreau magnétique est placé dans le récipient.
  Le bécher ou l'erlenmeyer est fermé avec du papier aluminium.
  Le récipient est déposé sur une plaque chauffante avec agitation magnétique.
- On chauffe doucement jusqu'à obtenir une légère ébullition pendant environ 1 minute, en contrôlant la température pour éviter le débordement.
- On continue d'agiter jusqu'à dissolution complète de la poudre.
  Le bec Bunsen est allumé afin de maintenir un environnement stérile.
  La solution chaude est versée dans des flacons stériles de 180 mL devant la flamme.

Les flacons sont fermés, puis la solution est stérilisée dans un autoclave à 121 °C pendant 2 heures.

Après stérilisation, on laisse refroidir le milieu à 45–50 °C, puis on le verse dans des boîtes de Pétri en une couched'environ 25 mL par boîte.

Les boîtes sont laissées à température ambiante jusqu'à solidification, puis stockées à 4 °C jusqu'à utilisation.

Avant usage, les boîtes sont placées quelques minutes dans l'étuve pour éviter un excès d'humidité.



Figure11 : Préparation de milieux de culture **(photo personnelle, 2025).**

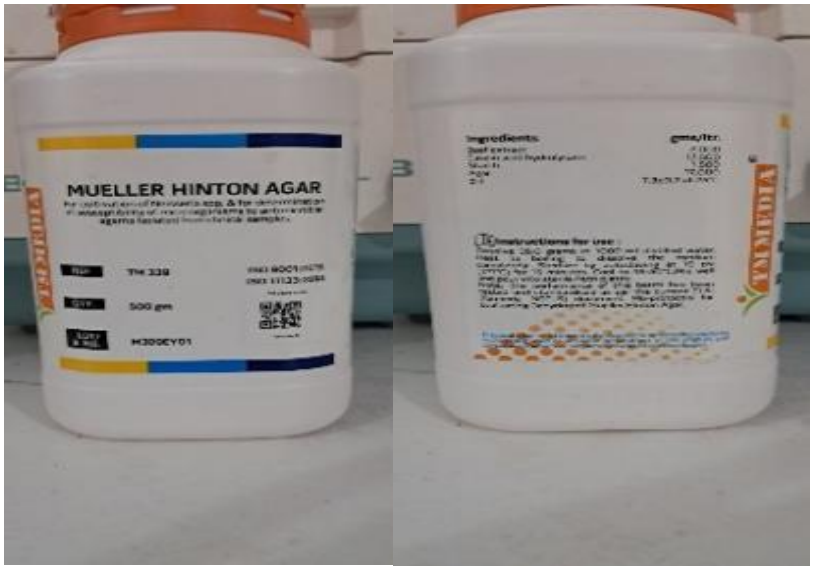


Figure12 : Flacon de Mueller Hinton Agar (photo personnelle, 2025).

4.3 Échantillonnage

Les prélèvements sont effectués par la technique d'écouvillonnage, qui consiste à frotter l'extrémité cotonnée d'un écouvillon stérile sur les surfaces sèches et humides à analyser.

Les échantillons ainsi prélevés ont été rapidement transportés au laboratoire de bactériologie, après avoir humecté les écouvillons au préalable avec du BHIB ou de l'eau physiologique stérile.

Les prélèvements ont ensuite été mis en vortex, puis isolés dans un délai de moins de 2 heures après leur prise, notamment pour les échantillons oculaires.

4.4 Isolement

L'isolement a été réalisé sur trois milieux de culture :

la gélose nutritive (GN),la gélose Hektoen (HK),et la gélose MacConkey (MAC).

L'ensemencement commence par les milieux HK ou MAC afin de préserver la charge bactérienne, puis se poursuit sur la gélose nutritive.

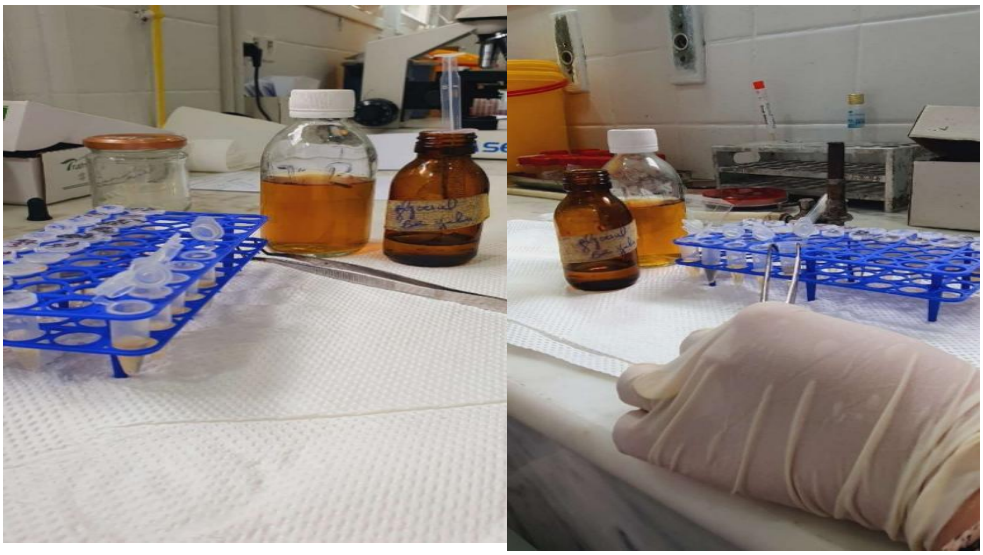
La première partie de la boîte de Pétri est ensemencée à l'aide de l'écouvillon imbibé dans le BHIB, en le frottant sur la surface de la gélose.

La seconde partie est ensemencée à partir de la première, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, en réalisant des stries serrées puis espacées.

Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 h jusqu'à l'apparition des colonies.

4.5 Conservation des souches

- Dans un tube Eppendorf stérile, on ajoute 0,5 mL de glycérol stérile à 30 % à l'aide d'une seringue stérile, puis 0,5 mL de BHIB stérile. On mélange doucement pour former un milieu de conservation protégeant les cellules à la congélation.
- Une colonie jeune (18–24 h) et isolée est prélevée avec une pipette Pasteur stérile et ajoutée dans le tube contenant le mélange glycérol/BHIB.
- La suspension est homogénéisée par vortex.
- Les informations concernant la souche et la date sont notées sur le tube.
- Les tubes sont placés au congélateur à −20 °C.



-

Figure 10 : Préparation et conservation es souches bactériennes en milieu BHIB/ glycérol **(photo personnelle, 2025).**

4. 6 Identification bactérienne

4.6.1 Identification morphologique

4.6.1.1 Étude macroscopique et isolement

Après incubation, on effectue une lecture macroscopique pour détecter la croissance des colonies et observer leur aspect.

En cas de présence de deux types de colonies différentes dans un même prélèvement, un réisolement est réalisé pour chaque type sur un même milieu (gélose HK), suivi d'une réincubation dans des conditions optimales jusqu'à l'obtention de souches pures.

4.6.1. 2 Étude microscopique Elle comprend l'examen à l'état frais et après coloration.

- **état frais**

- **Technique**

- On dépose une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- On prélève une colonie isolée à l'aide d'une pipette Pasteur.
- On effectue une suspension homogène.
- On recouvre avec une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.
- La lecture se fait à faible luminosité à l'objectif X10 puis X40.

Examen après coloration

- **Préparation du frottis**

- On dépose une goutte d'eau physiologique stérile (ou d'eau distillée stérile) sur une lame propre à l'aide d'une pipette Pasteur.
- On prélève une colonie isolée à l'aide d'une pipette Pasteur.
- On mélange pour obtenir une suspension homogène.
- Le frottis est séché à la flamme (fixation) par des passages rapides à travers la flamme du bec Bunsen, sans trop chauffer, jusqu'à l'apparition d'une fine couche blanche.
- On laisse ensuite refroidir.

- **Coloration de Gram**

- On dépose la lame sur le support de l'évier.
- On applique le violet de gentiane dilué (1/10) pendant 1 minute.
- On rince brièvement à l'eau.
- On recouvre ensuite la lame de lugol et on laisse agir pendant 45 secondes à 1 minute.
- On rince à nouveau à l'eau.
- On décolore avec de l'éthanol à 90 % pendant 30 secondes.
- On applique la fuchsine pendant 1 minute.On lave abondamment à l'eau courante.Le frottis est séché à l'air libre ou entre deux papiers buvards.

- On dépose une goutte d'huile à immersion sur le frottis.L'observation se fait à l'objectif X100.

4.7 Identification biochimique

➢ **Test de l'oxydase**

o **Technique :**

- On dépose un disque oxydase sur une lame propre.
- On prélève une colonie isolée avec une pipette Pasteur et on l'étale sur le disque.
- On attend de 3 à 5 secondes pour observer la réaction.

4.8 Identification sur milieu CHROMagar Orientation

- À partir des colonies isolées sur MacConkey, un repiquage est effectué sur CHROMagar Orientation.
- À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie isolée pure qu'on ensemence par stries sur une boîte de CHROMagar.
- Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 heures.
- Après incubation, on observe la couleur des colonies : chaque espèce bactérienne présente une coloration spécifique sur ce milieu.



Figure14: Technique d'ensemencement sur boîte CHROMagar **(photo personnelle, 2025). .**

4.9 Antibiogramme

➢ **Préparation de l'inoculum**

- À partir d'une culture pure et jeune (18 à 24 h), on prélève environ 3 colonies bien isolées à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Les colonies sont émulsionnées dans 10 mL d'eau physiologique stérile.
- La suspension est homogénéisée au vortex.
- Son opacité doit correspondre à 0,5 sur l'échelle de MacFarland.

➢ **Ensemencement**

L'ensemencement se fait par la méthode de l'écouvillonnage.

- On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, on le laisse s'imbiber puis on l'essore pour éliminer l'excès.
- On ensemence toute la surface de la gélose Mueller-Hinton sèche par stries croisées en tournant la boîte trois fois.
- On laisse sécher la boîte pendant environ 10 minutes avant application des disques.



Figure15: Application des disques et incubation**(photo personnelle, 2025).**

- À l'aide d'une pince préalablement flambée, on dépose les disques imprégnés d'antibiotiques sur la gélose.
- On appuie légèrement pour assurer un bon contact avec la surface.
- Un disque d'amoxicilline/acide clavulanique (AMC/AUG) est placé au centre, les autres disques (CTX, NIT, IPM, ETP, OFX) sont disposés autour en respectant une distance minimale de 2,5 cm entre eux.
- Chaque boîte contient au maximum 6 disques.
- Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 heures.



Figure16 : Technique Application des disques**(photo personnelle, 2025) .**

➢ **Lecture des résultats**

- La lecture se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée.
- L'interprétation suit les critères standard (Sensible, Intermédiaire ou Résistant).

4.10 Identification moléculaire

4.1.1 Préparation des milieux de pcr

➢ **Préparation du tampon TE(Tris +Edta)**

➢ EDTA:

- Onpesé1,8 g d'EDTA avecla balance électrique.
- On mesure8 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'une éprouvette graduée de10ml.
- On verse l'eau dans un bécher de 100 ml.
- On ajoute la poudre d'EDTA dans l'eau.
- On agité avec un agitateur magnétique
- Après avoir mesuré le pH d'une solution avec un pH-mètre, on ajuster ce pH à une valeur désirée pH 8, en ajoutant progressivement une solution basique du NaOH (hydroxyde de sodium).
- On a ajoutel,eausitillée jusqu'à 100 ml



Figure17 : Pesée du EDTA pour la préparation de la solution d'EDTA 0,5 M (Pesée précise de la quantité de EDTAà l'aide d'une balance analytique) **(photo personnelle, 2025).**

Tris 1 M (pH 8) :

La même méthode est utilisée pour réparation du tampon Tris 1 M (pH 8) à l'exception des quantités qui diffèrent.

- On a pesé 1,2 g de Tris et On ajusté le pH à 8 avec de l'HClconcentré.

➢ **Tampon TE 1X**

- À l'aide d'une Pipette graduée, on prélève 1 mL de solution de Tris à 1 M que l'on verse dans un bécher de 100 mL. Ensuite, à l'aide de micropipettes, on ajoute précisément 0,2 mL d'une solution d'EDTA à 0,5 M.
- On a complété à 100 ml avec de l'eau distillée.
- On a homogénéisé en agitant doucement.

o Préparation du tampon TBE (Tris +acide borique+Edta)

- EDTA On pesé 0.389g d'EDTA avecla balance électrique.
- On mesure 2 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'une Pipette graduée
- On verse l'eau dans un bécher de 10 ml
- On ajoute la poudre d'EDTA dans l'eau.
- On agité avec un agitateur magnétique
- Après avoir mesuré le pH d'une solution avec un pH-mètre, on ajuster ce pH 8 par(NaOH).



Figure18: Pesée de l'EDTA pour la préparation de la solution tampon(Utilisation d'une balance de précision pour peser 0,389 g d'EDTA) **(photo personnelle, 2025).**

- **Tampon TBE :**

- Pour préparer 1 litre de tampon TBE 0,5x ; 5,9 g de Tris et 2,75 g d'acide borique ont été précisément pesés à l'aide d'une balance analytique. Ces solides ont été transférés dans un erlenmeyer, puis 2 mL d'une solution d'EDTA ont été ajoutés. Le volume a ensuite été porté à 1000 mL avec de l'eau distillée, en agitant jusqu'à dissolution complète.

4.10.2 Préparation du gel d'agarose

_Une quantité de 6 g d'agarose a été pesée à l'aide d'une balance de précision Cette poudre a été transférée dans un flacon en verre de 500 ml.Ensuite, 400 ml de tampon TBE 1X (préparé au préalable) ont été ajoutés au flacon.

_ Le mélange a été chauffé au micro-ondes pendant environ 6 minutes, jusqu'à dissolution complète de l'agarose.

_Après dissolution, la solution a été laissée à refroidir légèrement (sans solidification).

_Une fois tiède, 1 µl de colorant SYBR Safe a été ajouté et bien mélangé.

_ Le mélange a ensuite été versé dans un moule à gel muni de peignes, et laissé à polymériser à température ambiante.



Figure 19: Préparation du gel d'agarose pesée de l'agarose et chauffage au micro-ondes **(photo personnelle, 2025).**

4.10.3 Protocol d'extraction de l'ADN

Tout d'abord, .les souches conservées ont été**repiquées sur gélose MacConkey (MAC),** puis**incubées à 37 °C pendant 24 heures.**
Après incubation, **quelques colonies bactériennes isolées** ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile et transférées dans un **tube Eppendorf de 1,5 ml** contenant **150 µl de tampon TE**.

Le mélange obtenu a été placé dans un **thermo-agitateur**à**100 °C pendant 10 minutes** afin de procéder à la lyse thermique des cellules.
Ensuite, les tubes ont été **centrifugés à 12 000 tours/min pendant 14 minutes.**
Le **surnageant contenant l'ADN** a été soigneusement récupéré et conservé à -20 °C jusqu'à utilisation, tandis que le culot cellulaire a été éliminé.



Figure 20 : Utilisation d'un thermo-agitateur pour l'incubation des tubes Eppendorf **(photo personnelle, 2025).**

4.10.4 Préparation du Master Mix

La préparation du Master Mix a été réalisée dans des conditions stériles, à l'intérieur d'unehotte à flux laminaire, afin de minimiser tout risque de contamination.

Les différents composants ont été ajoutés dans un ordre précis dans un tube Eppendorf stérile de 1,5 ml :

197,4 µl d'eau ultra-pure

42 µl de tampon réactionnel (Buffer B)

42 µl de chlorure de magnésium ($MgCl_2$)

4,2 µl de dNTPs

4,2 µl de solution GC-rich

10,5 µl du mélange d'amorces Forward et Reverse

42 µl de Hot FirePol® DNA Polymerase (sans ADN matrice à ce stade)

L'ensemble du mélange a été homogénéisé délicatement à l'aide d'une micropipette de 20 µl, en prenant soin d'éviter la formation de bulles, afin de ne pas compromettre l'efficacité de la réaction PCR.

Tableau 17 : Tableau des Composants et Volumes pour la Préparation du Mix PCR Standar

Mix PCR standard pour une réaction	Quantité PCR standard	Quantité PCR standard pour 21 réaction
Hot Fire	2µl	42µl
Buffer B	0,2µl	4,2µl
Mg Cl2	2µl	42µl
dNTP	0,2µl	4,2µl
GC-rich	0,2µl	4,2µl
Amorce Forword	0,5µl	10,5µl
Amorce Reverse	0,5µl	10,5µl
Eau ultra pure	9,4µl	197,4µl
ADN	5µl	105µl
Volume total	20 µl	420µl

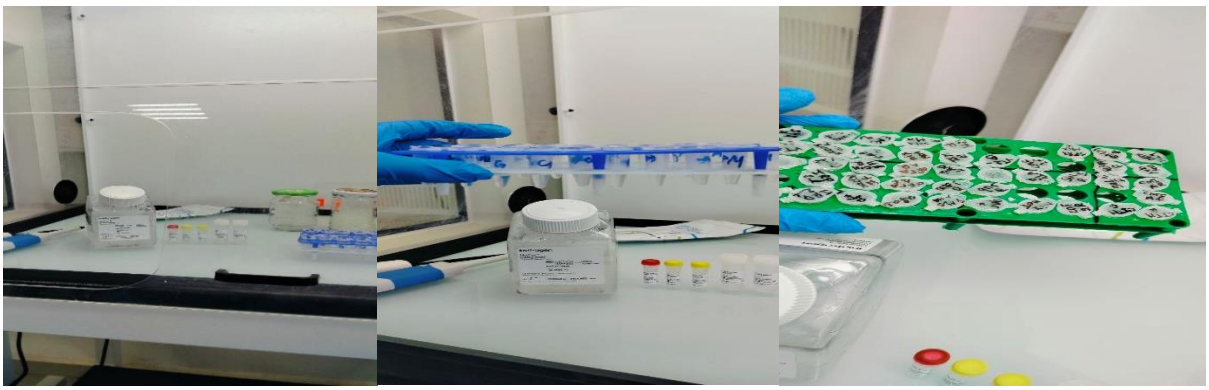


Figure21: Préparation du Master Mix pour l'amplification PCR **(photo personnelle, 2025).**

4.10.5 Préparation de mix du pcr standard

Avant toute manipulation, l'intérieur de la hotte à flux laminaire a été **stérilisé par rayonnement ultraviolet (UV) pendant 15 minutes.** Une fois l'espace de travail désinfecté, la préparation des réactions PCR a été entamée dans des conditions aseptiques.

À l'aide d'une micropipette, **15 µl de Master Mix** préalablement préparé ont été distribués dans **chaque tube PCR** (regroupés en barrettes de huit microtubes). Ensuite, **5 µl d'ADN matrice** ont été ajoutés à chaque tube contenant le mélange réactionnel.

Les tubes PCR ont ensuite été **scellés et placés dans un thermocycleur**, afin d'effectuer l'amplification selon un programme thermique adapté aux amorces utilisées.



Figure22:hotte à flux laminairela hotte à flux laminaire et hotte derayonnement ultraviolet (UV)**(photo personnelle, 2025)**.

4.10.6Amplification du mélange réactionnel

L'amplification se fait dans un thermocycleur pendant 2 heures selon un programme de 57 cycles comprenant :

- Dénaturation initiale : 95 °C pendant 15 min (activation de la polymérase et séparation des brins d'ADN)
- Cycles d'amplification (×57) :
  - Dénaturation : 95 °C pendant 30 sec
  - Hybridation : Température spécifique au gène (30 sec)
  - Élongation : 72 °C pendant 1 min/kb
- Élongation finale : 72 °C pendant 5 min

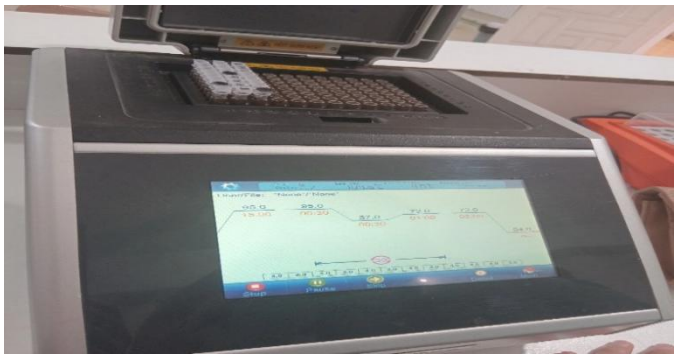


Figure23: Amplification des souches dans le thermocycleur**(photo personnelle, 2025).**

Dans notre travail, nous étudions trois systèmes de gènes de résistance :

Quinolones (qnr) ,Aminosides (aac) ,Tétracyclines (tet)

Souches Testées (Total = 8) :

- ✓ Escherichia coli : 2 souches
- ✓ Klebsiella spp. : 3 souches
- ✓ Pseudomonas spp. : 3 souches

Nous avons testé 8 souches différentes, en adaptant notre protocole en raison du nombre limité de barrettes disponibles et la quantité de produit limite.

4.10.7 Electrophorèse:

Après solidification, le peigne a été retiré. Le gel et son support ont été placés dans la cuve de migration remplie de tampon TBE 0.5X.

4.10 .8 Dépôt des échantillons :

Dans un puitsdes deux lignes de la cuve, 2 µl du marqueur de poids moléculaire ont été déposés sans bleu de charge. Pour chaque échantillon, on a versé 6 µl de produit PCR mélangés à 2 µl de loading buffer, puis la migration a été effectuée à 135 V pendant 20 minutes.

4.10.9 Visualisation des fragments d'ADN :

La Visualisation s'est faite par placer le gel sous transilluminateurUV,apres on ete Ajuster l'exposition de la caméra pour obtenir un contraste optimalSauvegarder les et images

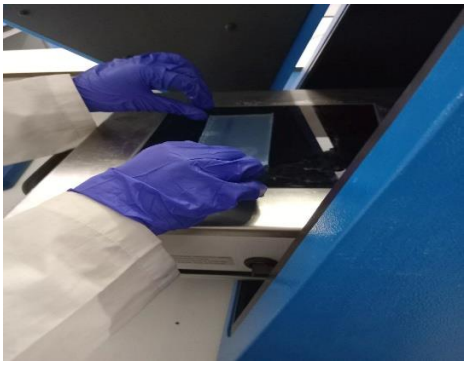


Figure24: Étape de chargement du gel d'agarose pour analyse électrophorétique des acides nucléiques **(photo personnelle, 2025) .**

Resultats

Parmi les 261 échantillons recueillis dans divers services hospitaliers et sur différents sites, 60 prélèvements ont donné des résultats positifs, soit environ 23 % du total. À l'inverse, 201 échantillons, représentant près de 77 %, se sont révélés négatifs (Figure 1).

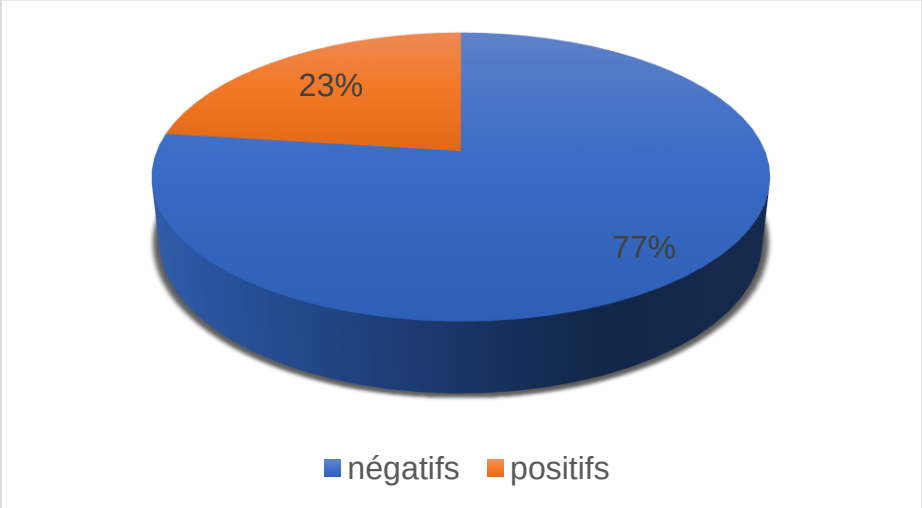


Figure 25: répartitiondes résultats**.**

Les résultats de cette étude révèlent une prédominance marquée des échantillons négatifs (77 %) par rapport aux échantillons positifs (23 %).

1. **Résultats bactériologiques :**

   - **État frais**

L'observation à l'état frais des bacilles Gram négatif au microscopeles bacilles Gram négatif apparaissent sous forme de bâtonnets allongés, généralement isolés ou en petits groupes permet également d'évaluer la mobilité des bacilles.

Certains germes présentent une mobilité active

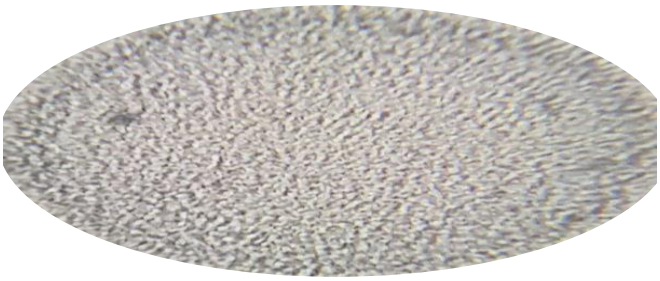


Figure 26: L'observation microscopique de l'état frais**(photo personnelle, 2025) .**

- **Coloration de Gram**

Au microscope optique, les bacilles Gram négatifs se présentent sous forme de bâtonnets colorés en rose/rouge, ce qui permet de les distinguer des bacilles Gram positifs qui restent violets.

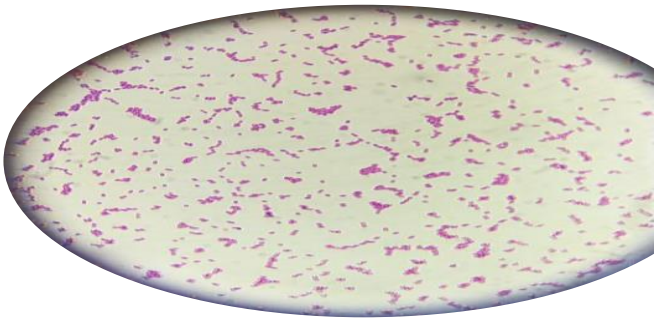


Figure 27: L'observation microscopique des bactéries après coloratuiion de GRAM**(photo personnelle, 2025) .**

2. Resultat de l'identification par chromaagar

Tableau18: Distribution des bactéries multirésistantes par service et couleur de colonie"

Service hospitalier	**Couleur des colonies sur chromagar**	**Identification**
Traumatogie hommes	Rose foncé,Bleu-vert,Beige, Bleu foncé.	E.coli,Klebsiella, Proteus,Pseudomonas
Traumatogie femmes	Bleu foncé.	Pseudomonas.
Médecine internehommes	Bleu foncé	Pseudomonas.
Médecine interne femmes	Rose foncé, Bleu foncé	E.coli,Pseudomonas.
Réanimation	Bleu-vert,Beige.	Klebsiella, Proteus.
Neurochirurgie (pédiatrique)	Bleu-vert,Beige, Bleu foncé.	Klebsiella,Proteus,Pseudomonas.

Maternité (salle d'accouchement, salle postopératoire, salle de pré-accouchement, salle d'accouchement naturel …ect)	Rose foncé, Bleu-vert,Beige, Bleu foncé.	E.coli, Klebsiella, Proteus,Pseudomonas.
Urgences	Rose foncé,Bleu-vert, Bleu foncé.	E.coli,Klebsiella, Pseudomonas.
Pneumologie	Bleu-vert, Bleu foncé.	Klebsiella, Pseudomonas.

- ✓ Remareque ; Identification de chromagaare selon le catalogue.

Le tableau présente une synthèse des résultats d'identification bactérienne selon les services hospitaliers, la couleur des colonies sur chromagar, et l'espèce bactérienne correspondante.

- o Pseudomonas (Bleu foncé) ,'E. coli (Rose foncé) ,Klebsiella spp(Bleu-vert)et Proteusspp(Beige)

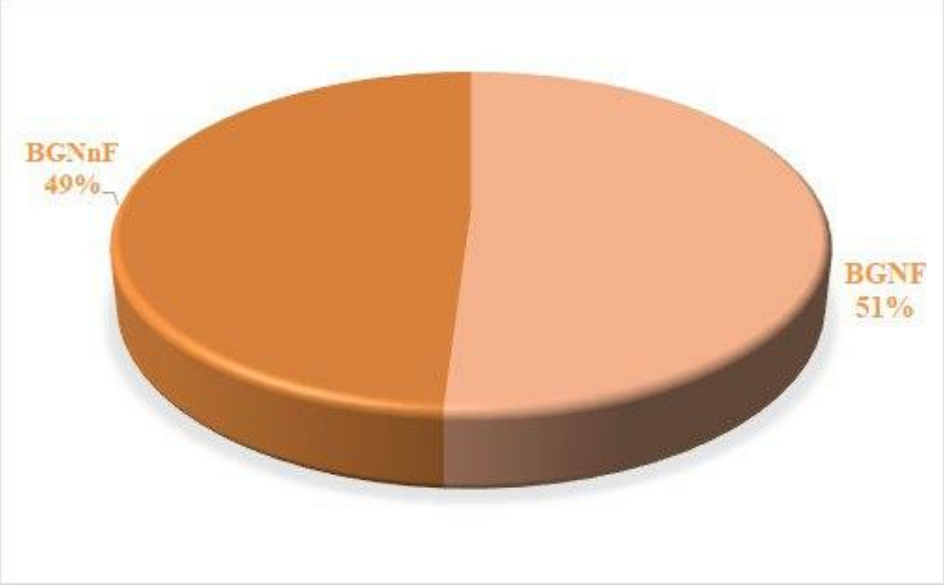


Figure 28:Répartition des Bactéries à Gram Négatif Fermentatives (BGNF) et Non Fermentatives (BGNnF) dans le milieu Hospitalières" .

Le diagramme circulaire présente la répartition des bactéries à Gram négatif isolées dans les l'environnementhospitaliers, classées en deux catégories :

- Bactéries à Gram négatif fermentatives (BGNF): 51%
- Bactéries à Gram négatif non fermentatives (BGNnF): 49%

3. Identification biochimique

➢ **Teste oxydase**

"Parmi 49 BGN analysés, 25 étaient oxydase négative (entérobactéries) et 24 ont donné une réaction oxydase positive (ex. Pseudomonas), reflétant une diversité microbiologique significative."

4. Resultat Antibiogramme

Tableau19 : Profil de Résistance et de Sensibilité des Isolats Bactériens aux Antibiotiques dans Différents Services Hospitaliers.

Les services	**Les souches**	**LES Antibiotiques**						
		AUG	**CTX**	**IPM**	**ETP**	**OF**	**NIT**	**FOX**
pneumologie	1	S	**R**	S	**R**	S	**R**	
Neurochirurgie	29	S	**R**	S	S	**I**		S
Réanimation	3c	S	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**
	24	S	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	
Maternité	14c	S	**I**	S	S	S	S	
	21F	S	S	S	S	S	S	
	26F	S	**R**	S	**R**	**I**	S	
	30F	S	**I**	S	**I**	S	S	
Urgences (pédiatrique ,Adulte)	10F	S	**R**	S	**I**	**R**		S
	13	S	**R**	S	S	**R**	**R**	
	15	S	**I**	S	S	S	S	
	25	S	**R**	S	**I**	**R**	**R**	
	28	S	**R**	S	S	S		S

Ce tableau présente les profils de résistance aux antibiotiques de différentes souches bactériennes isolées dans plusieurs services hospitaliers. Les antibiotiques testés incluent l'amoxicilline-acide clavulanique **(AUG**), le céfotaxime**(CTX)**, l'imipénème**(IPM)**, l'ertapénème**(ETP)**, l'ofloxacine **(OF)**, la nitrofurantoïne**(NIT)** et la céfoxitine**(FOX).**

Observations générales :

Résistance élevée au céfotaxime (CTX) :La majorité des souches (sauf certaines en Maternité et Urgences) sont résistantes (R) au CTX.

: Neurochirurgie (29), Réanimation (3c, 24), Urgences (10F, 13, 25).

Sensibilité conservée à l'imipénème (IPM) :La plupart des souches restent sensibles (S) à l'IPM, sauf en Réanimation (3c, 24)

.Résistance variable à l'ertapénème (ETP) :Certaines souches (Réanimation, Urgences 10F, 25, Maternité 26F) montrent une résistance (R) ou une sensibilité intermédiaire (I), confirmant une résistance croisée partielle entre carbapénèmes.

Profil favorable en Maternité :Les souches 14c, 21F et 30F sont majoritairement sensibles, sauf pour CTX (21F, 26F) et ETP (26F).

Urgences : Profils hétérogènes :Certaines souches (15, 28) sont sensibles à la plupart des antibiotiques, tandis que d'autres (10F, 13, 25) résistent aux céphalosporines (CTX) et aux fluoroquinolones (OF).



Figure29: Résultats de l'antibiogramme par diffusion en disque sur gélose(Mueller-Hinton) **(photo personnelle, 2025) .**

5. Résultat d'étude moléculaire(PCR).

Système	E. coli (n=2)	Klebsiella (n=3)	Pseudomonas (n=3)
TET	0% positif (0/2)	67% positif (2/3)	67% positif (2/3)
Qnr	0% (0/2)	0% (0/3)	0% (0/3)
AAC	0% (0/2)	0% (0/3)	0% (0/3)

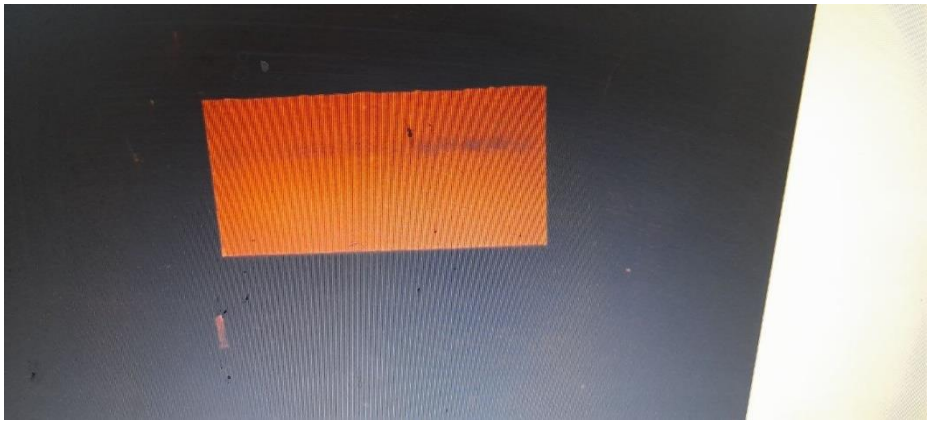


Figure30 :détection du gène TET chez Klebsiella et Pseudomonas**(photo personnelle, 2025).**

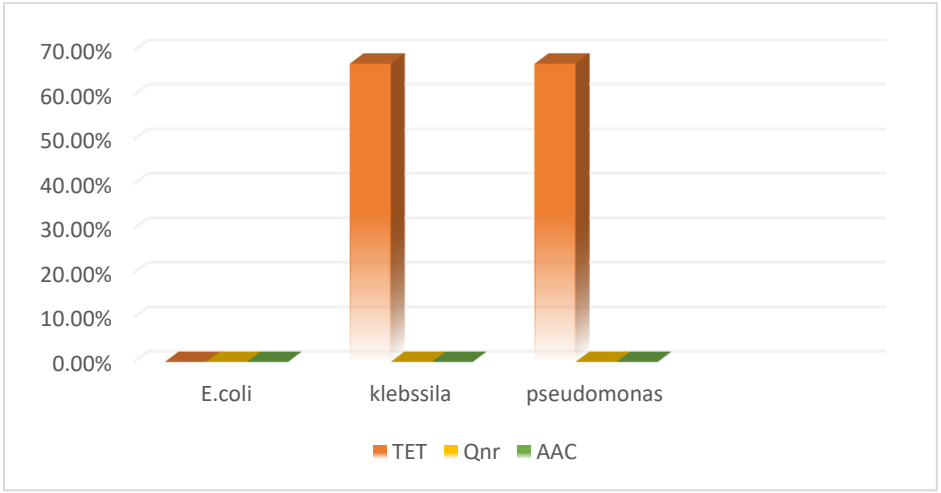


Figure31:Taux de résistance des souches bactériennes aux familles d'antibiotiques Qnr ,AACet TET**(photo personnelle, 2025) .**

Discussion

Les résultats de notre étude révèlent une contamination non négligeable de l'environnement hospitalier par des bacilles à Gram négatif multirésistants (BGNMR). Sur 261 échantillons analysés, 23 % étaient positifs, ce qui indique une présence significative de ces germes sur les surfaces et dispositifs médicaux. Ce taux est supérieur à celui rapporté dans d'autres travaux, comme celui de Lemmen et al. (~4,9 %) ou de certaines études africaines (~12,6 % de surfaces contaminées par les ESKAPEE). Cette différence pourrait s'expliquer par le niveau d'hygiène, ou la fréquence d'utilisation des antibiotiques dans les hôpitaux concernés.

Dans notre série, les espèces les plus fréquentes sont E. coli, Klebsiella spp., Proteus spp. et P. aeruginosa. Ces résultats sont cohérents avec les observations de Santé Publique France, qui montre que E. coli et K. pneumoniae sont majoritaires parmi les BLSE hospitalières. De plus, P. aeruginosa est régulièrement isolé dans les environnements humides, comme les lavabos et robinets **(SRLF.org (https://srlf.org/)),** tandis que A. baumannii est réputé pour sa survie prolongée sur les surfaces sèches (plusieurs semaines).

La répartition équilibrée entre bactéries fermentatives (51 %) et non fermentatives (49 %) reflète la diversité des niches écologiques hospitalières, et correspond aux données de **Bouguermouh et al. (2023)** en Algérie (55 % BGNF vs 45 % BGNnF), mais aussi à **Al-Hamad & Maxwell (2021)** qui ont rapporté une distribution 50/50 dans les hôpitaux généraux.

En termes de résistance aux antibiotiques, nos souches montrent une résistance élevée au céfotaxime, ce qui suggère une forte prévalence de BLSE. Ce profil concorde avec les résultats de **Debabza et al.,** qui ont isolé 306 souches de BGN dans l'environnement hospitalier algérien, dont 50 % d'entérobactéries productrices de BLSE. Concernant les carbapénèmes, la sensibilité à l'imipénème restait globalement conservée, sauf pour quelques isolats issus de la réanimation, où des résistances émergentes ont été notées. Là encore, Debabza et ses collègues ont souligné l'efficacité remarquable de l'imipénème sur les souches environnementales. Toutefois, l'apparition de résistances intermédiaires ou croisées à l'ertapénème dans notre étude suggère l'émergence possible de carbapénèmases (NDM, OXA-48) ou d'altérations de perméabilité membranaire, comme cela est décrit dans la littérature récente.

Nos résultats rejoignent aussi ceux de **Manel et al**., qui ont mis en évidence un taux élevé de P. aeruginosa sur les équipements hospitaliers (stéthoscopes, chariots...), avec près de 90,9 % de stéthoscopes contaminés par des germes multirésistants. Ces données renforcent l'idée que l'environnement matériel, autour de patients colonisés, joue un rôle actif dans la transmission.

Les services les plus concernés dans notre étude sont la réanimation, la maternité et les urgences. Ces zones sont bien connues pour leur risque élevé de dissémination bactérienne, comme le confirment les données de Santé Publique France, qui rapporte une incidence d'infections à entérobactéries BLSE 6 fois plus élevée en réanimation que dans l'ensemble de l'hôpital (3,15 vs 0,52/1000 JH). De plus, des études italienne et française ont prouvé par génotypage (PFGE, WGS) que certaines souches environnementales et cliniques de P. aeruginosa étaient génétiquement identiques, prouvant l'existence de transmissions croisées.

Notre étude a révélé la présence de gènes de résistance aux tétracyclines (tet) chez 4 isolats sur 8, notamment Klebsiella spp. et Pseudomonas spp., tandis qu'aucun gène qnr ni aac(6')-Ib n'a été détecté. Ces gènes tet codent pour des mécanismes d'efflux ou de protection ribosomale, facilitant la survie bactérienne en présence de tétracyclines **(Grossman, 2016).**

L'absence de qnr et aac suggère une faible diffusion de ces résistances plasmidiques dans notre hôpital. Ce constat est cohérent avec les données algériennes, où ces gènes sont peu fréquents mais présents à l'état sporadique **(Meradi et al., 2011 ; Baba Ahmed-KaziTani& Arlet, 2014).**

Sur le plan clinique, la détection de gènes tet sur des plasmides reste préoccupante car elle peut favoriser une dissémination rapide à d'autres souches. Toutefois, l'absence de gènes liés aux quinolones et aminosides indique que ces antibiotiques restent, pour l'instant, efficaces dans notre contexte local.

Nos résultats confirment donc l'importance d'un suivi moléculaire régulier, d'une vigilance face à la dissémination des gènes plasmidiques, et d'un usage raisonné des antibiotiques en milieu hospitalier.

En somme, ces résultats s'inscrivent dans un contexte préoccupant où l'environnement hospitalier devient un véritable réservoir pour les BGNMR. En tant qu'étudiante, cette étude m'a permis de prendre conscience que la contamination des surfaces ne doit jamais être sous-estimée, et que le renforcement des mesures de nettoyage et de surveillance microbiologique est indispensable pour freiner cette dissémination silencieuse mais active.

Conclusion

Arriver au terme de cette étude a permis de prendre la pleine mesure de la complexité et de la gravité que représente la résistance bactérienne en milieu hospitalier. Ce travail n'a pas seulement été une exploration scientifique, mais aussi une prise de conscience des défis auxquels est confronté le système de santé face à la propagation des bactéries multirésistantes.

Afin d'approcher cette problématique sous plusieurs angles, une double méthodologie a été adoptée : une analyse phénotypique pour observer les comportements de résistance des souches isolées, et une approche génotypique pour détecter la présence de gènes impliqués dans cette résistance.

L'ensemble des étapes réalisées confirme la nécessité d'une stratégie globale de prévention, reposant sur une hygiène stricte, un usage raisonné des antibiotiques et une surveillance rigoureuse des souches résistantes en milieu hospitalier.

En somme, ce mémoire met en lumière un enjeu crucial de santé publique, et appelle à une mobilisation collective des professionnels de santé afin de préserver l'efficacité des antibiotiques et garantir une prise en charge efficace des infections dans les années à venir.

Recommandations

Au vu des résultats obtenus et de la portée de cette problématique, nous recommandons les actions suivantes :

- Renforcer les mesures d'hygiène hospitalière, notamment par la désinfection régulière des surfaces et du matériel médical.
- Mettre en place des programmes de formation continue pour le personnel de santé sur la gestion des antibiotiques et la prévention des infections nosocomiales.
- Améliorer le diagnostic microbiologique rapide, en intégrant des méthodes moléculaires dans les laboratoires hospitaliers.
- Instaurer un système de surveillance épidémiologique efficace pour le suivi des bactéries multirésistantes.
- Favoriser la recherche scientifique sur de nouvelles alternatives thérapeutiques face à l'antibiorésistance

A

• **Abraham D. (2018).** Identification des souches d'Escherichia coli dans les selles en rapport avec la malnutrition à DIORO. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université des sciences, des techniques et des technologiques de Bamako. P 03.

• **Almasaudi, S. B. (2016).** Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. Saudi Journal of Biological Sciences, *25*, 586–596. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.12.008

• **Alrashed, A. S. A., et al. (2023).** Incidence of drug-resistant hospital-associated Gram-negative bacterial infections. Antibiotics, 43(5), Article PMC10525819.

• **Arias, C. A., & Murray, B. E. (2016).** Mechanisms of antibiotic resistance. Microbiology Spectrum, 4(2).

B

• **Baba Ahmed-Kazi Tani, Z., & Arlet, G. (2014).** Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. Pathologie Biologie, 62(3), 169–178. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2014.01.002

• **Balière, C. (2016).** Les Escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC [Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale]. HAL. https://theses.hal.science/tel-01505750v1

• **Baker, S., & Scott, T. A. (2023).** Antimicrobial-resistant Shigella: where do we go next? Nature Reviews Microbiology, *21*, 409–410. https://doi.org/10.1038/s41579-023-00906-1

• **Barbier, F., & Wolff, M. (2010).** Multirésistance chez Pseudomonas aeruginosa : vers l'impasse thérapeutique. Médecine/Sciences, *26*(11), 960–968.

• **Bathily, M. D. (2002).** Sensibilité aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif isolées d'infections urinaires de 1999 à 2001 [Thèse de doctorat, Université de Bamako].

• **Bergogne-Bérézin, E., & Dellamonica, P. (1999).** Antibiothérapie en pratique clinique (2e éd.). Masson.

• **Billah, M. M., & Rahman, M. S. (2024).** Salmonella in the environment: A review on ecology, antimicrobial resistance, seafood contaminations, and human health implications. Journal of Hazardous Materials Advances. https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2024.100407

• **Blazejewski, C., Wallet, F., Ponthieux, S., Bouzeriba, M., Fersing, I., Fourrier, F., Durocher, A., & Nseir, S. (2012).** Intérêt des vaporisateurs de peroxyde d'hydrogène pour la désinfection terminale des chambres de réanimation. Réanimation, *22*(Suppl), S214–S218. https://doi.org/10.1007/s13546-012-0598-y

• **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Dakkak, N. (2020).** Resistance to antibiotics and mechanisms of action of essential oils against bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology, *104*(22), 9949–9964. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10902-9

C

• **Carle, S. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique importante. Pharmactuel, *42*(Suppl. 2), 6–12.

• **Clavilier, L., Hervieu, F., & Letodé, O. (2001).** Gènes de résistance aux antibiotiques et plantes transgéniques. Éditions INRA.

• **Cortés-Sánchez, A. D. J., Diaz-Ramírez, M., Rayas-Amor, A. A., Espinosa-Chaurand, L. D., Torres-Ochoa, E., & Salgado-Cruz, M. D. P. (2025).** Microbiological Hazards in the Food Chain of Fish and Products, a Focus on Klebsiella spp. Veterinary Sciences, *12*(2), 133. https://doi.org/10.3390/vetsci1202013

D

• **Davin-Regli, A., Lavigne, J.-P., & Pagès, J.-M. (2019).** Enterobacter spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. Clinical Microbiology Reviews, *32*(2), e00002-19. https://doi.org/10.1128/CMR.00002-19

• **DEBABZA, Manel (2015).** Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire [Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba]. Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Algérie. https://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2016/01/These-Debabza-Manel.pdf.pdf

• **Denis F., Le Hello S., Barraud O. et Ploy, M.-C. (2016).** Bacilles à Gram négatif aérobies et aéro-anaérobies. In : Bactériologie médicale : Techniques usuelles (Chapitre 30, p. 305). Paris : 3e édition entièrement refondue, Elsevier Masson SAS.

• **Doughari, H. J., Ndakidemi, P. A., Human, I. S., & Benade, S. (2011).** The Ecology, Biology and Pathogenesis of Acinetobacter spp.: An Overview. Microbes and Environments, *26*(2), 101–112. https://doi.org/10.1264/jsme2.ME10179

• **Drzewiecka, D., Palusiak, A., Siwińska, M., & Zabłotni, A. (2021).** The prevailing O serogroups among the serologically differentiated clinical Proteus spp. strains in central Poland. Scientific Reports. https://doi.org/10.1038/s41598-021-XXXX-X

• **Dumaru, R., Baral, R., & Shrestha, L. B. (2019).** Study of biofilm formation and antibiotic resistance pattern of gram-negative Bacilli among the clinical isolates at BPKIHS, Dharan. BMC Research Notes, *12*, 38. https://doi.org/10.1186/s13104-019-4084-8

E

• **Étienne, J., Gutmann, L., & Jarlier, V. (2006).** Infection nosocomiale. In La maîtrise des maladies infectieuses : un défi de santé publique, une ambition médico-scientifique (Chapitre 8, p. 155).

F

• **Facciolà, A., Gioffrè, M. E., Chiera, D., Ferlazzo, M., Virga, A., & Laganà, P. (2022).** Evaluation of antibiotic resistance in Proteus spp: a growing trend that worries Public Health. New Microbiologica, *45*(4), 269-277. https://newmicrobiologica.org/wp-content/uploads/2022/12/MICRO_4_2022_2.5_FULL_Lagan_496N282_269-277-OK.pdf

• **Fauchère, J. L. (1997).** Bactériofiches. Techniques en bactériologie clinique. Éditions Ellipses.

• **Faure, S. (2009).** *Transfert d'un gène de résistance aux β-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie* [Thèse de doctorat, Université de Rennes 1].

• **François, J., Chomarat, M., Weber, M., & Gérard, A. (2003).** De l'antibiogramme à la prescription (2e éd., pp. 8–22). BioMérieux.

• **Fernandez-Cuenca, F., Martinez-Martinez, L., Conejo, M. C., Ayala, J. A., Perea, E. J., & Pascual, A. (2003).** Relationship between β-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, *51*, 565–574.

• **Figarella J, Leyral G, Terret M. (2007).** Microbiologie générale et appliquée. Collection Sciences et techniques biologiques. Éditions Delagrave, 2007, 285p.

• **Francis, M. S., & Auerbuch, V. (2019).** Editorial: The Pathogenic Yersiniae–Advances in the Understanding of Physiology and Virulence, Second Edition. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, *9*, 119. https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00119

G

• **Gillespie, S. H., & Hawkey, P. M. (Éds.). (2006).** Principles and practice of clinical bacteriology (2e éd., p. 341-397). John Wiley & Sons Ltd.

• **Gniadkowski, M. (2001).** Evolution and epidemiology of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. Clinical Microbiology and Infection, *7*, 597–608.

• **Gross, H., & Loper, J. E. (2009).** Genomics of secondary metabolite production by Pseudomonas spp. Natural Product Reports, *26*(11), 1408–1446. https://doi.org/10.1039/b817075b

• **Grossman, T. H. (2016).** Tetracycline antibiotics and resistance. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 6(4), a025387. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025387

• **Guardabassi, L., & Courvalin, P. (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In F. M. Aarestrup (Ed.), Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin (pp. 1–18). ASM Press.

• **Guinoiseau, E. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action [Thèse de doctorat, Université de Corse].

H

• **Hmar, E. L., Paul, S., & Sharma, H. K. (2024).** The role of Shigella spp. in propagating bacillary dysentery in humans and the prominence of nanotechnology in disease prevention. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, *10*, 97. https://doi.org/10.1186/s43094-024-00676-4

I

• **Illiaquer, M. (2010).** Épidémiologie et caractérisation moléculaire de souches de Klebsiella pneumoniae résistantes aux céphalosporines de 3e génération, hors BLSE, isolées entre 2007 et 2009 au CHU de Nantes [Thèse de doctorat, Université de Nantes].

• **Ioannou, P., Vougiouklakis, G., Baliou, S., Miliara, E., & Kofteridis, D. P. (2021).** Infective Endocarditis by Yersinia Species: A Systematic Review. Journal of Pathogens, *2011*, Article ID 239391. https://doi.org/10.4061/2011/239391

J

• **Jabeen, I., Islam, S., Hassan, A. K. M. I., Tasnim, Z., & Shuvo, S. R. (2023).** A brief insight into Citrobacter species - a growing threat. *DOI 10.3389/frabi.2023.1276982*

K

• **Khan, H. A., Ahmad, A., & Mehboob, R. (2015).** Nosocomial infections and their control strategies. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, *5*(7), 509–514. http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.001

L

• **Lachassinne, E., Letamendia-Richard, E., & Gaudelus, J. (2004).** Épidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie. Archives de pédiatrie, *11*(3), 229–233. https://doi.org/10.1016/j.arcped.2003.10.016

• **Lambert T., Denis F., Le Hello S., Barraud O., Martin C., Cattoir V. (2016).** Bacilles à Gram négatif aérobies et aéro-anaérobies. In : Bactériologie médicale : Techniques usuelles (Chapitre 30.5, p. 348). Paris : 3e édition entièrement refondue, Elsevier Masson SAS.

• **Lancet Infectious Diseases. (2024).** Multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections cause significant morbidity and mortality globally. The Lancet.

• **Le Hello S., Ploy M.-C., Denis F. (2016).** Bacilles à Gram négatif aérobies et aéro-anaérobies. In : Bactériologie médicale : Techniques usuelles (Chapitre 30.2, p. 304). Paris : 3e édition entièrement refondue, Elsevier Masson SAS.

• **Livermore, D. M., & Woodford, N. (2006).** β-lactamase threat in the Enterobacteriaceae, Pseudomonas, and Acinetobacter. Trends in Microbiology, *14*, 413–420.

• **Liu, L., Lan, R., Liu, L., Wang, Y., Zhang, Y., & Wang, Y. (2017).** Antimicrobial Resistance and Cytotoxicity of Citrobacter spp. in Maanshan Anhui Province, China. Frontiers in Microbiology. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01357

• **Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A. V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., Reeves, P. R., Knirel, Y. A., Wang, L., & Widmalm, G. (2020).** Structure and genetics of Escherichia coli O antigens. FEMS Microbiology Reviews, *44*(6), 655–683. https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028

• **Liu, L., Zhang, L., Zhou, H., Yuan, M., Hu, D., Wang, Y., Sun, H., Xu, J., & Lan, R. (2021).** Antimicrobial resistance and molecular characterization of Citrobacter spp. causing extraintestinal infections. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, *11*, Article 737636. https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.737636

• **Le Minor, L., & Véron, M. (1989).** Bactériologie médicale (p. 1107). Flammarion.

M

• **Mariani-Kurkdjian P., Bonacorsi S., Bingen E. (2016).** Diagnostic bactériologique des infections gastro-intestinales. In : Bactériologie médicale : Techniques usuelles (Chapitre 15, p. 156). Paris : 3e édition entièrement refondue, Elsevier Masson SAS.

• **Meradi, L., Djahoudi, A., Abdi, A., et al. (2011).** Qnr and aac(6')-Ib-cr types quinolone resistance among Enterobacteriaceae isolated in Annaba, Algeria. Pathologie Biologie, 59(4), e73–e78. https://doi.org/10.1016/j.patbio.2010.10.002

• **Meyer A., Deiana J., & Bernard A. (2004).** Cours de microbiologie générale : avec problèmes et exercices corrigés. Éditions Doin. p. 43.

• **Mohammadi R. M., Rajabi Z., Soltan dallal M. (2019).** Identification of Yersinia species in raw chicken meat in Tehran retail stores and determination of their antibiotic resistance pattern. *10.22092/ARI.2025.366547.3264*

• **Muylaert, A., & Mainil, J. G. (2013).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». Annales de Médecine Vétérinaire, *156*, 109–123.

• **Musengele, D. M. B., Muswema, J. L., Lohohola, P. O., Mvele, O. M., Malongwe, J. K., Disa-Disa, P. M., Kayembe, J. S., Ndonganzadi, T., Mweze, E. B., Mbinza, L. K., Muderhwa, F. M., Musengele, C. K., Lukukula, C., Vihembo, G., & Ekoko, G. B. (2024).** Évaluation de l'effet bactéricide des nanostructures "sol-gel" de TiO2 intrinsèque et Ag-TiO2 dopé sur Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus. Journal Africain des Sciences, *1*(2), 157–169. https://doi.org/10.70237/jafrisci.2024.v1.i2.16

N

• **Neyaz A. L., Alghamdi H. S., Alghashmari R. M., Alswat S., Almaghrabi R. O., Bazaid F. S., Albarakaty F. M., Elbanna K., Abulreesh H. (2024).** A comprehensive review on the current status of culture media for routine standardized isolation of Salmonella and Shigella spp. from contaminated food. https://doi.org/10.1007/s43994-024-00205-2

• **Nordmann, P., Poirel, L., Rodriguez-Martinez, J. M., & Plésiat, P. (2009).** Naturally occurring Class A β-lactamases from the Burkholderia cepacia complex. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, *53*(3), 876–882.

O

• **Oludairo, O. O., Kwaga, J. K. P., Kabir, J., Abdu, P. A., Gitanjali, A., Perrets, V. C., Lettini, A. A., & Aiyedun, J. O. (2022).** A Review on Salmonella Characteristics, Taxonomy, Nomenclature with Special Reference to Non-Typhoidal and Typhoidal Salmonellosis. Zagazig Veterinary Journal, *50*(2), 161-176. https://doi.org/10.21608/zvjz.2022.137946.1179

P

• **Peleg, A. Y., & Hooper, D. C. (2010).** Hospital-acquired infections due to Gram-negative bacteria. The New England Journal of Medicine, *362*(19), 1804–1813.

R

• **Ramirez, D., & Giron, M. (2023).** Enterobacter Infections. StatPearls. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/

• **Rodriguez-Villalobos, H., & Struelens, M. J. (2006).** Résistance bactérienne par β-lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. Réanimation, *15*(3), 205–213.

• **Ruiz-Roldán, L., Rojo-Bezares, B., Lozano, C., López, M., Chichón, G., Torres, C., & Sáenz, Y. (2021).** Occurrence of Pseudomonas spp. in Raw Vegetables: Molecular and Phenotypical Analysis of Their Antimicrobial Resistance and Virulence-Related Traits. International Journal of Molecular Sciences, *22*(23), 12626. https://doi.org/10.3390/ijms222312626

• **Ramoul, A. (2013).** Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba].

S

• **Seabaugh, J. A., & Anderson, D. M. (2024).** Pathogenicity and virulence of Yersinia. Virulence, *15*(1), 2316439. https://doi.org/10.1080/21505594.2024.2316439

• **Sefraoui, I. (2015).** Étude de la résistance aux antibiotiques de Pseudomonas aeruginosa au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien [Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen].

• **Somda, N. S., Nyarkoh, R., Tankoano, A., Bonkoungou, O. J. I., Tetteh-Quarcoo, P. B., & Donkor, E. S. (2025).** Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases and carbapenemases-producing Shigella in Africa: a systematic review and meta-analysis. BMC Infectious Diseases, *25*, 81. https://doi.org/10.1186/s12879-024-10266-7

• **Sougakoff, W., & Trystram, D. (2003).** Résistance aux β-lactamines [Rapport universitaire, Université Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine].

• **Sushitha, T. S., Pulikottil, S. K., & Beena, V. G. (2025).** Bacteriological profile of nonfermenting gram-negative bacilli causing infections in immunocompromised patients. Journal of Advanced Medical and Pharmaceutical Sciences. https://doi.org/10.47009/jamp.2025.7.1.30

• **Supyar, K., Mamoria, V. P., & Sharma, R. (2025).** Antibacterial Susceptibility Patterns of Non-Fermentative Gram-Negative Bacilli among Patients at Tertiary Care Hospital, Jaipur. Research Journal of Microbiology and Medicine. https://doi.org/10.55453/rjmm.2025.128.2.6

V

• **Vazquez, U. E. (2018).** Impact de souches commensales et probiotiques d'Escherichia coli sur la physiopathologie de l'hôte [Thèse de doctorat, Université Paris-Sorbonne, ED 394 - Physiologie, physiopathologie et thérapeutique]. Soutenue publiquement le 4 décembre 2018. Directrice de thèse : Muriel Thomas. P. 99-100.

W

• **Wang, J., Xie, J., & Mei, J. (2025).** Research Progress Regarding Psychrotrophic Pseudomonas in Aquatic Products: Psychrophilic Characteristics, Spoilage Mechanisms, Detection Methods, and Control Strategies. Foods, *14*(3), 363. https://doi.org/10.3390/foods14030363

• **Wieczorek, P., Sacha, P., Hauschild, T., Zórawski, M., Krawczyk, M., & Tryniszewska, E. (2008).** Multidrug resistant Acinetobacter baumannii—The role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. Folia Histochemica et Cytobiologica, *46*(3), 257–267.

Y

• **Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar Korich, M. N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb, *91*(1), 5–12.

• **Yassine, I. (2022).** Population structure analysis and laboratory monitoring of Shigella using whole genome sequencing [Thèse de doctorat, Université Paris Cité et Université Libanaise]. HAL Id: tel-04283200. https://theses.hal.science/tel-04283200v1

• **Yassine, K. (2011).** Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline–acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème [Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat].

• **Younis et al. (2016).** Virulence Properties and Antimicrobial Susceptibility Profiles of Klebsiella Species Recovered from Clinically Diseased Broiler Chicken. Gamal Younis1, amal awad1, ahmed el-Gamal2, Rania hosni*. https://www.researchgate.net/publication/309474968_Virulence_Properties_and_Antimicrobial_Susceptibility_Profiles_of_Klebsiella_Species_Recovered_from_Clinically_Diseased_Broiler_Chicken

Z

• **Zaheer, A., Mirza, B. S., Mclean, J. E., Yasmin, S., Shah, T. M., Malik, K. A., & Mirza, M. S. (2016).** Association of plant growth-promoting Serratia spp. with the root nodules of chickpea. FEMS Microbiology Reviews, *31*(4), 407–424. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00071.x