

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de Biologie

*Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire au
biomédical et à l'environnement (LAMAABE)*

MEMOIRE

Présenté par

OTMANI Meriem & MOKHDAR Chaimaa

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie et contrôle de qualité

Thème

**Etude de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries
au niveau du CHU de Tlemcen**

Soutenu le **10 septembre 2020** devant le jury composé de :

Président	<i>Mme Bendimerad Nahida</i>	Maître de conférences classe B	Université de Tlemcen
Examineur	<i>Mme M'hamedi Imane</i>	Maître de conférences classe B	Université de Tlemcen
Encadreur	<i>Mme Merad Boudia Esma</i>	Maître de conférences classe B	Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

"يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ"

المجادلة -11-

العلم يبني بيوتاً لا عماد لها

و الجهل يهدم بيوت العز و الشرف

احمد شوقي

« Chaque bonne réalisation, grande ou petite, connaît ses périodes de corvée et de triomphe; un début, un combat et une victoire »

-- Gandhi--

Remerciements

Avant tout nous remercions « Dieu » qui, lui seul, nous a guidé dans le bon chemin durant notre vie et qui nous a donné le courage, la volonté, et la force pour élaborer ce travail de recherche.

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

*Nous remercions tout d'abord notre encadreur **Mme Merad Boudia Esma**, qui a accepté avec toute modestie de nous encadrer, malgré ses multiples charges, tout le long de ces années d'études. Qui nous a suivi et dirigé tout au long de nos recherches, n'a pas manqué de nous aider par des orientations et des renseignements scientifiques et veillé notre progression et entraîné notre voie vers la réussite. Qu'elle trouve ici l'expression notre plus profond respect et nos profondes gratitude.*

*Au personnel de **Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire au biomédical et à l'environnement (LAMAABE)**, qui nous a aidé et soutenue tout long de la période d'étude.*

Nous remercions vivement les membres de jury :

Mme **Bendimerad, nous sommes très honorées que vous acceptiez la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et soyez assuré de notre profonde gratitude.*

** Mme **M'hamedi**, votre revenu en tant qu'examinatrice nous honore, nous vous sommes très reconnaissantes et nous vous adressons nos vifs remerciements.*

*Un grand remerciement pour tous nos enseignants pour leurs contributions dans notre cursus universitaire, dans le département de biologie. En particulier à Mme **Malek**, Mr **Rebiahi**, Mr **Belyaagoubi**, Mme **Bensalah**, Mme **Bellifa**, Mme **kholkhal**....*

Nous remercions également tous ceux qui ont contribué de prêt ou de loin à la réalisation de notre mémoire.

Bien entendu, nous tenons à remercier chaleureusement nos parents qui ont toujours été présents, qui n'ont pas cessé de nous soutenir et nous accompagner en toute épreuve tout au long de nos études.

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leurs exprimer mon amour sincère :

À mon très cher père Bachir :

Qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'immense affection et amour que je te porte. Que ce travail qui vous est personnellement dédié soit le fruit de tes sacrifices, ta patience et ta confiance et le modeste témoignage de mon profond respect et mon plus grand amour. J'espère être ta fierté comme vous l'êtes à mes yeux.

Puisse Dieu t'accorder, santé, bonheur et longue vie, et faire en sorte que jamais je ne te déçoive.

À ma très chère mère Fatima Zohra :

Je ne saurai remercier Dieu assez de m'avoir gâtée depuis ma naissance par le don de t'avoir comme génitrice. Tu es mon 1^{er} et plus grand amour sur cette Terre ; tu es ma meilleure amie et mon plus grand soutien. Tes prières ont été pour moi d'un grand soutien au cours de ce long parcours. Merci de m'avoir soutenue et aidée à surmonter tous les imprévus de la vie.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

À mes très chers frères Ayoub et Yacine :

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour envers vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, et d'être comblé de bonheur. Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé.

À mes très chères grands Mères, qui m'ont accompagné par ses prières, ses douceurs. Puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.

À la mémoire de mes très chers grands pères Brahim et Moulay Ali :

Qui grâce à eux j'ai pu arriver à ce stade de ma carrière universitaire et que je suis aujourd'hui. Ils ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite.

Que Dieu le miséricordieux les accueille dans son vaste paradis.

À ma cousine Wafaa :

Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.

À mon binôme Chaimaa :

Je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble.

À mes amies, avec lesquelles j'ai passé des bons moments inoubliables, tout en leur souhaitant la réussite dans tout ce qu'ils entreprennent

À toute ma famille et tous ceux qui m'ont encouragé et m'ont Apporté leur soutien.

Meriem

Dédicace

*Chaque jour qui passe je remercie **Allah**, et je le pris tout le temps de me donner la force de suivre le chemin qu'il m'a tracé afin de mener à bien le destin qu'il m'a prévu.*

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

***Aux** deux êtres les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence, et qui m'ont toujours su nous combler d'amour et de tendresse, et qui m'ont soutenu nuits et jours et durant tout mon parcours, aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments :*

***Mon très cher père Benamer** qui m'a donné un magnifique model de volonté, et qui m'a toujours gâté, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, merci Papa; **Ma très chère mère Souad** qui a consacré sa vie pour bâtir la mienne, je lui serai éternellement reconnaissante, Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte, merci Maman. Avec mes prières qu'ils soient toujours en bonne santé et à mes côtés.*

À mes très cher frères : Mohamed et Ibrahim Elkhalil

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Pour votre appui, votre compréhension et surtout votre encouragement, Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

À mes chers grands parents,

Qui m'ont accompagné par ses prières, merci beaucoup pour l'énergie et le bonheur que je puise dans votre présence.

***À la mémoire de ma très chère Grand-mère,** j'aurai tellement aimé que tu sois parmi nous et lire la lueur de fierté dans tes yeux.*

***À Ma unique et formidable famille,** tantes et oncles, cousines et cousins.*

À mon binôme : Meriem

Avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler, je la remercie pour tout ce que tu m'as apporté au cours de cette année.

***À tous mes amis sans exception,** nous avons passé des agréables moments.*

***À ma promotion MCQ,** la plus adorable.*

***À tous mes enseignants** depuis le primaire jusqu'à mon cursus universitaire.*

***À Tous mes proches** de près et de loin.*

Chaimaa

ملخص :

البكتيريا المعوية هي بكتيريا انتهازية تمثل واحدة من العائلات الرئيسية للعصيات سلبية الجرام المسؤولة عن الالتهابات البشرية الخطيرة. يعد رصد مقاومة المضادات الحيوية في المستشفى خطوة أساسية؛ إنه يرشد اختيار العلاجات التجريبية ويجعل من الممكن تقليل ضغط الانتقاء الذي تمارسه المضادات الحيوية. أظهرت دراسة 18 سلالة من البكتيريا المعوية المعزولة في المستشفيات على مستوى أقسام مختلفة من مستشفى جامعة تلمسان بين فبراير ومارس 2020 ، أن *Klebsiella pneumoniae* و *Enterobacter cloacae* تحتل المركز الأول ، أي (27.77٪) ، تليها (22.22٪) من *Escherichia coli* و *Serratia marcescens* مع توزيع أكبر بنسبة 56.25٪ بين الذكور مقارنة بالإناث والتي تمثل فقط 43.75٪. كما أن مقاومة البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية تشهد تطوراً مثيراً للقلق في جميع أنحاء العالم.

كلمات مفتاحية :

العصيات المعوية، المضادات الحيوية، عدوى المستشفيات، تحديد، مقاومة المضادات الحيوية.

Résumé :

Les entérobactéries sont des bactéries opportunistes qui représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif responsables d'infections humaines graves. La surveillance de la résistance aux antibiotiques à l'hôpital est une étape essentielle; elle oriente le choix des traitements empiriques et permet de réduire la pression de sélection exercée par les antibiotiques.

L'étude de 18 souches d'entérobactérie isolées en milieu hospitalier au niveau de différents services du CHU de Tlemcen entre Février et Mars 2020, montre que *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* occupe la première place soit (27,77%), suivie par (22,22%) d'*Escherichia coli* et de *Serratia marcescens* avec une plus grande répartition de 56,25% chez le sexe masculin par rapport féminine qui ne représente que 43,75%.

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques connaît une évolution mondiale préoccupante.

Mots clés :

Entérobactéries, Antibiotiques, Infection nosocomiale, Identification, Résistance aux antibiotiques.

Abstract :

Enterobacteria are opportunistic bacteria which represent one of the main families of Gram-negative bacteria responsible of serious human infections. Surveillance of antibiotic resistance in the hospital is an essential step; it guides the choice of empirical treatment and reduces the selection pressure exerted by antibiotics.

The study of 18 strains of Enterobacteriaceae isolated in various units in the hospital of Tlemcen between February and March 2020, shows that *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* are ranked first (27,77%), followed by *Escherichia coli* et de *Serratia marcescens* (22,22%) With a greater distribution of 56.25% among males compared to females which represents only 43.75%.

The antibiotic resistance of enterobacteriaceae knows a worldwide worrying evolution.

Key words :

Enterobacteria, Antibiotics, Nosocomial infection, Identification, Antibiotic resistance.

Liste des tableaux

**TABLEAU 1: REPARTITION DE 18 SOUCHES D'ENTEROBACTERIES EN FONCTION DE L'ESPECE
ET DE LA PROVENANCE DU PRELEVEMENT : 36**

**TABLEAU 2 : REPARTITION DE 18 SOUCHES D'ENTEROBACTERIES EN FONCTION DE
L'ESPECE ET DE TYPE DE PRELEVEMENT : 36**

Liste des figures

FIGURE 1: STRUCTURE CHIMIQUE DE NOYAU BETA-LACTAME (TIDWELL.,2008)..... 10

FIGURE 2: STRUCTURE CHIMIQUE DES PENICILLINES (HOLTEN ET ONUSKO.,2000). 10

FIGURE 3: STRUCTURE CHIMIQUE DE CEPHALOSPORINES (HOLTEN ET ONUSKO2000). 11

FIGURE 4 : STRUCTURE DE MONOBACTAME (EBIMIEOWEI ET IBEMOLOGI,2016)..... 12

FIGURE 5: STRUCTURE DE CARBAPENEME (PAPP-WALLACE ET AL., 2011)..... 12

FIGURE 6 : STRUCTURES D'AMINOGLYCOSIDES REPRESENTATIFS, Y COMPRIS LES AMINOGLYCOSIDES ATYPIQUES STREPTOMYCINE ET APRAMYCINE, 4,6-SUBSTITUES AG STOBAMYCINE, GENTAMCINE ET AMIKACINE, ET LA 4,5-SUBSTITUEE AG NEOMYCINE. LES ANNEAUX DE DESOXYSTREPTAMINE OU STREPTIDINE SONT EN GRAS (M. KRAUSE ET AL.,2016)..... 14

FIGURE 7 : STRUCTURE DE BASSE DES QUINOLONES (CAMBAU ET GUILLARD,2012). 15

FIGURE 8 : CLASSIFICATION STRUCTURALE DES QUINOLONES (CAMBAU ET GUILLARD,2012)..... 16

FIGURE 9 : STRUCTURE CHIMIQUE DE LA POLYMYXINE B ET DE LA COLISTINE. L-DAB : ACIDE L-2,4-DIAMINO BUTYRIQUE ; L-THR : L-THREONINE ; L-PHE : L-PHENYLALANINE ; L-LEU : L-LEUCINE ; D-LEU : D-LEUCINE (DORTET ET AL.,2016). 17

FIGURE 10: DIFFERENTS MECANISMES DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DANS UNE BACTERIE A GRAM NEGATIF (MUylaERT ET MAINIL.,2012). 18

FIGURE 11 : BOITE PETRI AVEC GELOSE MACCONKY AVEC L'APPARITION DES COLONIES APRES L'INCUBATION (PHOTO PERSONNELLE) 28

FIGURE 12: TUBES DE PRE-ENRICHISSEMENT (PHOTOS PERSONNELLES) 28

FIGURE 13 : GALERIE API 20E (PHOTO PERSONNELLE)..... 29

FIGURE 14 : FICHE DE RESULTAT DE LA GALERIE API 20 E MONTRE LE PROFIL NUMERIQUE D'*ESCHERICHIA COLI* (PHOTO PERSONNELLE). 30

FIGURE 15 : POURCENTAGE DE CULTURE POSITIVE ET DE CULTURE NEGATIVE. 32

FIGURE 16: POURCENTAGE DE BACILLES A GRAM NEGATIF. 32

FIGURE 17: ASPECT MACROSCOPIQUE DES COLONIES SUR MILIEU MAC CONKEY (PHOTOS PERSONNELLES). 33

FIGURE 18 : GALERIE API20.E IDENTIFICATRICE DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* (PHOTO PERSONNELLE). 33

Liste des figures

FIGURE 19: GALERIE API20.E IDENTIFICATRICE D'<i>ENTEROBACTER CLOACAE</i> (PHOTO PERSONNELLE).	34
FIGURE 20: GALERIE API20.E IDENTIFICATRICE DE <i>SERRATIA MARCESCENS</i> (PHOTO PERSONNELLE).	34
FIGURE 21: REPARTITION DES ISOLATS.	34
FIGURE 22: REPARTITION DES ENTEROBACTERIES EN FONCTION DE SERVICE.	35
FIGURE 23: REPARTITION DES ENTEROBACTERIES EN FONCTION DES SITES DE PRELEVEMENT.	35
FIGURE 24: MOYENNES DES CAS POSITIFS SELON LA TRANCHE D'AGE.	37
FIGURE 25: REPARTITION GLOBALE DES ECHANTILLONS SELON LE SEXE.	37
FIGURE 26 : PREPARATION DU MILIEU (PHOTOS PERSONNELLES)	50
FIGURE 27: BOITE PETRI AVEC GELOSE MACCONKY (PHOTO PERSONNELLE).	50

Liste des abréviations

ADH : Arginine dihydrolase.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

API : Analytique profil index.

ARN : Acide ribonucléique.

ARNr : Acide ribonucléique ribosomal.

ARNt : Acide ribonucléique de transfert.

ATB : Antibiotiques.

BLSE : Les β -lactamases à spectre étendu.

BGN : Bacilles à Gram Négatif.

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

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

C1G : Céphalosporine de 1^{ère} génération.

C2G : Céphalosporine de 2^{ème} génération.

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} génération.

C4G : Céphalosporine de 4^{ème} génération.

H₂S : Dihydro-sulfure.

I : Intermédiaire.

IN : Infection Nosocomiale.

IND : Indole.

L-Ara4N : 4-amino-4-désoxy-L-arabinose

LDC : Lysine Décarboxylase.

LPS : Lipopolysaccharides.

MBL : Métallo- β -lactamase.

ODC : Ornithine Décarboxylase.

OMS : L'Organisation mondiale de la santé.

Liste des abréviations

pEtN : Phosphoéthanolamine

PSCs : Polysaccharide capsulaire.

R : Résistant.

S : Sensible.

spp : Espèce.

subsp : Sous-espèce.

TDA : Tryptophane désaminase.

TMP : Le triméthoprim.

VP : Voges-Proskauer.

RM : Rouge De Méthyle.

Sommaire

REMERCIEMENTS.....	I
DEDICACES	II
LISTE DES TABLEAUX	V
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES ABREVIATIONS	VIII
SOMMAIRE	1
INTRODUCTION.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
CHAPITRE 01 : LES ENTEROBACTERIES.....	4
1. GENERALITE :	4
2. TAXONOMIE :	4
3. CARACTERES MORPHOLOGIQUES :	4
4. LES CARACTERES CULTURAUX :	5
5. LES CARACTERES ANTIGENIQUES :	5
6. ETUDES DES PRINCIPAUX GENRES :	6
6.1. <i>Escherichia</i>	6
6.2. <i>Shigella</i>	6
6.3. <i>Klebsiella</i> :	6
6.4. <i>Proteus-Providencia</i> :	6
6.5. <i>Salmonella</i> :	7
6.6. <i>Yersinia</i> :	7
6.7. <i>Enterobacte</i> :	7
6.8. <i>Citrobacter</i> :	7
6.9. <i>Hafnia</i> :	7
6.10. <i>Morganella</i> :	8
6.11. <i>Serratia</i> :	8
7. POUVOIR PATHOGENE :	8
CHAPITRE 02 : LES ANTIBIOTIQUES.	10
1. HISTORIQUE :	9
2. DEFINITION DES ANTIBIOTIQUES :	9
3. LA CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES :	9
4. LES BETA-LACTAMINES :	9
4.1. <i>définition</i> :	9
4.2. <i>Classification</i> :	10
4.2.1. Pénicilline :	10
4.2.2. Céphalosporine(Céphèmes) :	10
4.2.3. Monobactames :	11
4.2.4. Carbapénèmes :	12

4.2.5. Les inhibiteurs des β -lactamases:.....	12
4.3. <i>Mode d'action</i> :.....	13
5. LES AMINOGLYCOSIDES OU LES AMINOSIDES :	13
5.1. <i>Définition</i> :.....	13
5.2. <i>Mode d'action</i> :.....	14
6. QUINOLONE (FLUOROQUINOLONES) :	15
6.1. <i>Définition et classification</i> :.....	15
6.2. <i>Mode d'action</i> :.....	16
7. POLYMYXINES :.....	16
7.1. <i>Définition</i> :.....	16
7.2. <i>Mode d'action</i> :.....	17
CHAPITRE 03 : MECANISMES DE RESISTANCE CHEZ LES	
ENTEROBACTERIES.....	18
1. DEFINITION :	18
2. RESISTANCE AUX BETA-LACTAMINES :	18
2.1. <i>Résistances non enzymatiques</i> :	18
2.1.1. Modification de la cible :	18
2.1.2. Diminution de la perméabilité :.....	19
2.1.3. Hyperproduction de système d'efflux :.....	19
2.2. <i>Résistances enzymatiques: Production de β-lactamases</i>	19
2.2.1. Pénicillinase acquise :	19
2.2.2. β -lactamase à spectre étendu :.....	19
2.2.3. Céphalosporinase de haut niveau :	20
2.2.4. Hyperproduction d'enzymes chromosomiques (autre que les céphalosporinases de classe C) :	20
2.2.5. Carbapénèmase.....	20
3. RESISTANCE AUX AMINOGLYCOSIDES :	21
3.1. <i>Inactivation enzymatique</i>	21
3.2. <i>La méthylation de l'ARNr 16S</i> :	21
3.3. <i>Mutation dans les protéines de l'ARNr 16S:</i>	22
3.4. <i>Pompe d'efflux</i> :	22
4. LA RESISTANCE AUX QUINOLONES :	22
4.1. <i>Résistance chromosomique</i> :.....	22
4.2. <i>Résistance plasmidique</i> :.....	22
5. RESISTANCE AUX POLYMYXINES.....	23
5.1. <i>Résistance chromosomique</i> :.....	23
5.1.1. Modifications du LPS :	23
5.1.2. Synthèse d'une capsule :	23
5.1.3. pompes d'efflux :	24
ETUDE EXPERIMENTALE.....	25
MATERIEL ET METHODES.....	26
1. LIEU DE L'ETUDE :.....	26

1.1. Souches étudiées :	26
2. MATERIEL :	26
2.1. Les échantillons :	26
2.2. Appareillage :	26
2.3. Verreries et petit matériel :	26
2.4. Réactifs et produits chimique :	26
2.5. Disques d'antibiotiques :	27
2.6. Milieux de culture :	27
3. METHODE :	27
3.1. Prélèvement :	27
3.2. Ensemencement :	27
3.3. Purification :	28
3.4. Identification :	28
3.5. Appréciation ou observation macroscopique:	28
3.6. Identification biochimique :	28
3.6.1. Galerie API 20E :	28
3.7. Conservation des souches :	30
3.8. Antibiogramme :	31
3.8.1. Principe:	31
3.8.2. Technique:	31
3.8.3. Application des disques d'ATB:	31
3.8.4. Lecture:	31
RESULTATS ET DISCUSSION	32
1. RESULTAT :	32
1.1. Prélèvements :	32
1.2. Souches identifiées :	32
1.3. L'aspect macroscopique :	33
1.3.1. Aspect des colonies:	33
1.4. Identification biochimique des souches	33
1.5. Répartition des entérobactéries en fonction de service :	35
1.6. Répartition des entérobactéries en fonction de la nature de prélèvement :	35
1.7. Distribution des souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce et de l'origine :	36
1.8. Distribution des souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce et du type de prélèvement :	36
1.9. Caractéristiques des patients : âge et sexe :	37
1.10. Détermination du profil d'antibiorésistance :	38
2. DISCUSSION :	39
CONCLUSION	42
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	43
ANNEXES	26

Introduction

Introduction

La résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) est perpétuelle et en évolution, depuis plus de 20 ans (**Belmonte et al.,2010**), cette évolution est un phénomène actuellement préoccupant dans les pays en voie de développement où les pathogènes résistants aux antibiotiques peuvent avoir une plus forte prévalence dans certains pays africains (**Bradford.,2001**).

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens est un problème d'importance croissante en pratique médicale. La dissémination des bactéries résistantes est à l'origine d'une augmentation considérable de la mortalité, de la morbidité ainsi que du coût des traitements. Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries sont les plus redoutables. La concentration importante de ces germes dans le tube digestif, favorise l'échange et la dissémination des gènes de résistance (**Ebongue et al.,2015**).

Les entérobactéries sont des bactéries à Gram négatif en forme de bâtonnet qui sont des habitants normaux de la flore intestinale et parmi les agents pathogènes humains les plus courants, provoquant des infections allant de la cystite à la pyélonéphrite, en passant par la septicémie, la pneumonie, la péritonite, la méningite et les infections associées au dispositif. Ils sont la source la plus courante d'infections acquises à la fois dans la communauté et à l'hôpital. Les entérobactéries se propagent facilement entre les humains par transport manuel ainsi que par la nourriture et l'eau contaminées et ont une propension à acquérir du matériel génétique par transfert horizontal de gènes, principalement médié par des plasmides et des transposons. Cette combinaison est la raison pour laquelle l'émergence de la multirésistance aux médicaments chez les entérobactéries est de la plus haute importance pour la thérapie clinique (**Nordmann et al.,2012**).

La multirésistance observée chez certains pathogènes est particulièrement préoccupante. Elle réduit grandement et parfois élimine entièrement l'arsenal thérapeutique efficace contre les infections causées par ces pathogènes avec comme conséquence un impact négatif sur les résultats cliniques (**German et al., 2018**).

L'objectif de notre travail, consiste à étudier la résistance des entérobactéries aux antibiotiques au niveau de CHU de Tlemcen selon les étapes suivant :

- L'isolement des souches à partir de divers prélèvements de patients au niveau de CHU de Tlemcen.
- L'identification des souches.

- L'étude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques.
- La détection de leurs phénotypes de résistance.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01 : Les entérobactéries.

1. Généralité :

Les Entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif (BGN), retrouvées partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (**Khayar.,2011**).

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

- Bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large).
- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles.
- Poussant sur milieux de culture ordinaires.
- Aérobie - anaérobie facultatif.
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- Réduisant les nitrates en nitrites.
- Oxydase négatif (**Service de Bactériologie.,2003**).

2. Taxonomie :

Les entérobactéries appartiennent au règne des *Bacteria*, à l'embranchement des *Protéobacteria*, à la classe des *Gamma-protéobacteria* à l'ordre des *Enterobacteriale* et à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Leur classification est basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfures, présence ou absence de certaines enzymes du métabolisme), et/ou génotypiques (ribotypage, hybridation ADN/ADN) (**Denis.,2007**).

Les espèces cliniques les plus fréquemment isolées sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (**Scheftel.,2010**).

3. Caractères morphologiques :

Les entérobactéries sont polymorphes avec des tailles variant de 2 à 3 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. Les espèces mobiles, les plus nombreuses, le sont grâce à une ciliature péritriche tandis que certaines sont immobiles. Quelques-unes possèdent une capsule visible

au microscope et la plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion (Gadou.,2019).

4. Les caractères cultureux :

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C à pH voisin de la neutralité.

Ainsi on distingue:

- ✓ **Colonies S (smooth)** : lisses, régulièrement arrondies, limitées par des bords réguliers, légèrement bombées, translucides.
- ✓ **Colonies R (rugueuses)** : limitées par des bords irréguliers finement dentelé, assez plates, translucides et grisâtres.
- ✓ **Colonies M (muqueuses)** : plus volumineuses, arrondies, limitées par des bords réguliers, très bombées, de surface lisse, brillante, elles réalisent l'aspect en « coulée de miel ».
- ✓ **Colonies naines** : seulement visibles à la loupe (Bakhoum.,2004).

5. Les caractères antigéniques :

Au sein de chaque genre, on individualise des espèces, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Il existe trois catégories d'antigènes :

- ✓ **Antigène O** : Ce sont des antigènes de paroi composés de lipopolysaccharides (LPS) complexes. Se sont des endotoxines très toxiques, capables de provoquer dans l'organisme humain fièvre, leucopénie, bradycardie, hypotension et choc, coagulation intra-vasculaire disséminée ou la mort (la dose létale pour la souris est de 200 mcg).
- ✓ **Antigène H** : Ils ne sont pas toxiques. Ce sont des antigènes flagellaires de nature protéique, il est constitué comme l'antigène O d'une mosaïque d'antigènes avec des constituants communs à toutes les entérobactéries mobiles et des constituants spécifiques à chaque espèce.
- ✓ **Antigène K** : Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique qui entoure la paroi de certaines entérobactéries peut masquer l'antigène O (exemple l'antigène Vi, pour virulence, de *Salmonella typhi*) (Cours de Bactériologie.,2003).

6. Etudes des principaux genres :

6.1. Escherichia

Escherichia coli est la bactérie aéro-anaérobie facultative commensale qui se trouve partout dans l'environnement et plus particulièrement dans l'intestin de l'homme et des autres mammifères (des animaux à sang chaud) (Massot et al.,2016).

6.2. Shigella

Les shigelles, prototypes des bactéries entéro-invasives, sont des bacilles Gram négatif de la famille des entérobactéries, apparaissant sous la forme de courts bâtonnets de 2 à 3mm de long, immobiles, aflagellés, non encapsulés. Leur température optimale de croissance est de 37°C en milieu aéro-anaérobie. Ils sont peu résistants en milieu extérieur. Elles sont des parasites de l'homme et entraînent une colite infectieuse endémo-épidémique, la dysenterie bacillaire (shigellose) (Xavier et al.,2007).

6.3. Klebsiella :

Klebsiella spp est une bactérie à Gram négatif, immobile, généralement encapsulée en forme de bâtonnet, appartenant à la famille des entérobactéries. Ces bactéries produisent de la lysine décarboxylase mais pas de l'ornithine décarboxylase et sont généralement positifs dans le test de Voges-Proskauer. Membres de la famille des entérobactéries sont généralement anaérobies facultatifs et varient de 0,3 à 1,0 mm de largeur et de 0,6 à 6,0 mm de longueur. *Klebsiella.spp* produit souvent dans les colonies mucoïdes. Le genre se compose de 77 antigènes capsulaires (K antigènes), conduisant à différents sérogroupes (DeepeshKuma et al.,2013).

6.4. Proteus-Providencia :

Au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, le groupe *Proteus-Providencia* se distingue essentiellement par les deux caractères suivants :

- Présence d'un tryptophane désaminase.
- Envahissement constant de la gélose nutritive.

Le groupe *Proteus-Providencia* est divisé en deux genres.

- Le genre *Proteus* qui contient : *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis*.
- Le genre *Providencia* : *Providencia stuartii*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri*.

Sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux, elles peuvent dans certains cas se montrer pathogènes et provoquer des infections très diverses (Achmour.,2012).

6.5.Salmonella :

Présents dans l'eau et dans diverses denrées alimentaires, les Salmonelles sont pathogènes, soit exclusivement pour l'homme (*Salmonella typhi*), soit exclusivement pour l'animal (*Salmonella abortusovis*). Chez l'homme, elles sont responsables de la fièvre typhoïde et de gastro-entérites (Achmour.,2012).

6.6.Yersinia :

Yersinia pestis est une entérobactérie qui est un parasite de l'homme et des animaux, appartenant au genre *Yersinia*. Parmi celle-ci, seules deux autres sont également pathogènes pour l'homme et les animaux : *Yersinia pseudotuberculosis* et *Yersinia enterocolitica*. De virulence moindre que *Yersinia pestis*, elles ne causent que des entérites ou gastro-entérites qui guérissent spontanément (Séguy et Alfani.,2017).

6.7.Enterobacte :

Les *Enterobacter* sont des bactéries de l'environnement, et aussi des commensaux du tube digestif. Ce sont des pathogènes opportunistes surtout en milieu hospitalier responsables d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses. L'espèce type est *Enterobacter cloacae* (Khayar.,2011).

6.8.Citrobacter :

Le genre *Citrobacter* comprend deux espèces fréquemment isolés dans le laboratoire de bactériologie : *Citrobacter freundii* et *Citrobacter koseri*. Les *Citrobacter* sont des bactéries commensales du tube digestif de l'homme (Verhaegen., sd).

6.9.Hafnia :

Le genre *Hafnia* fait partie des plus de 40 genres qui composent actuellement la famille des entérobactéries. Bien que Moller ait initialement décrit ce genre en 1954, il est souvent fait référence à des synonymes tels que «*Enterobacter alvei*», «*Enterobacter aerogenes subsp. hafniae*» et «*Enterobacter hafniae*» (Janda et Abbott.,2006).

6.10. *Morganella* :

Morganella morganii est un bacille à Gram négatif, qui appartient à la tribu *Proteae* de la famille des *Enterobacteriaceae* et a deux sous-espèces, *Morganella morganii* et *Morganella sibonii*. Il est trouvé dans l'environnement et dans les voies intestinales de l'homme, mammifères et reptiles dans le cadre de la flore normale. Malgré sa large distribution, il s'agit d'une cause rare d'infections l'homme. *Morganella morganii* est le plus souvent rencontré dans patients postopératoires et est principalement associée à des troubles urinaires infections des voies respiratoires, bactériémie / septicémie chez les enfants et adultes, infections de la peau et des tissus mous, méningite, ecthyma, chorioamnionite, arthrite septique et l'endophtalmie (Falagas et al.,2006).

6.11. *Serratia* :

Le genre *Serratia* membre des *Enterobacteriaceae*, est composé d'un groupe de bactéries qui sont liés à la fois phénotypiquement et par la séquence d'ADN. Cependant, plusieurs espèces bactériennes extérieures à ce genre produisent des pigments de type digiosine ou prodigiosine ou de nombreux autres types de pigments rouges. Dix espèces sont actuellement connues pour appartenir dans le genre *Serratia*. Ces espèces sont: *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia proteamaculans*, *Serratia grimesii*, *Serratia plymuthica*, *Serratia rubidaea*, *Serratia odorifera*, *Serratia ficaria*, *Serratia entomophila*, *Serratia fonticola*. (Francine et Patrick A. D.,2006).

7. Pouvoir pathogène :

Les entérobactéries constituent les pathogènes humains les plus fréquemment isolés dans un laboratoire de bactériologie, en milieu communautaire comme hospitalier. Elles sont notamment responsables d'infections urinaires, pulmonaires, abdominales et de septicémies. Les bactéries du genre *Escherichia* et *Proteus* prédominent dans la flore commensale intestinale. Elles se comportent parfois comme des pathogènes opportunistes. Les genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella* et *Providencia*, retrouvés dans les eaux usées, les sols et en faible quantité dans le tube digestif, peuvent provoquer, du fait de leur résistance aux antibiotiques, de graves infections, notamment en milieu hospitalier (Riethmuller.,2013).

Chapitre 01 : Les entérobactéries

Les entérobactéries pathogènes spécifiques que l'on ne trouve pas à l'état commensal (en dehors des porteurs sains) et dont la présence dans les milieux extérieurs n'est qu'un phénomène transitoire. Les maladies qu'elles engendrent sont dues à un défaut d'hygiène et la contamination se produit soit par contact direct soit par l'intermédiaire d'un vecteur (alimentaire ou animal). Citons : La fièvre typhoïde due à *Salmonella typhi*, les toxi infections alimentaires dues à *Salmonella mineures*, *Shigella* et à *Yersinia* (SOMIPEV.,2017).

Chapitre 02 : Les antibiotiques.

1. Historique :

Le premier antibiotique, la pénicilline, découvert pour la première fois et rapporté en 1929 par Alexander Fleming (**McGeer et al., 2001**), la Pénicilline G a été le premier à être produit parmi ce groupe de pénicilline. Bien que la pénicilline G a été découverte par Alexander Fleming dans les années 1920, il a pris les efforts de plusieurs autres travailleurs comme Ernst Chain, Edward Abraham, Norman Heatley et Howard Florey en 1945 pour comprendre les exigences culturelles de champignon et son efficacité clinique (**Talero et Chess.,2008**).

2. Définition des antibiotiques :

Ce sont des substances naturelles produites par des moisissures ou des bactéries ou des composés chimiques obtenues par synthèse organique ou semi-synthèse qui inhibent ou détruisent, même à très faible concentration, d'autres micro-organismes, sans présenter une toxicité pour l'hôte. Un antibiotique doit atteindre la cible bactérienne spécifique et s'y fixer, selon leur mode d'action au niveau des cibles cellulaires et/ou leurs conditions d'utilisation, les antibiotiques ont un effet létal (effet bactéricide) ou un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne (effet bactériostatique) (**Gazengel et Orecchioni.,2013**). Il existe deux grandes catégories d'antibiotiques, Les antibiotiques à spectre étroit qui ne tuent qu'un nombre limité de bactéries, et les antibiotiques à spectre large qui sont efficaces contre de nombreuses bactéries (**Lesseur.,2014**).

3. La classification des antibiotiques :

Il existe plusieurs façons de classer les antibiotiques, mais les systèmes de classification les plus courants sont basés sur leurs structures moléculaires, mode d'action et spectre d'activité (**Calderon et Sabundayo.,2007**).

4. Les bêta-lactamines :

4.1.définition :

Les bêta-lactamines ce sont les antibiotiques les plus anciens (**Brunton LL et al.,2011**). Les membres de cette classe d'antibiotiques contiennent un 3-carbone et un cycle à 1 azote hautement réactif (figures 1 et 2). Les représentants de la classe des bêta-lactamines

comprennent: Pénicillines, céphalosporines, monobactames et Carbapénèmes (Ebimieowi et Ibemologi.,2016).

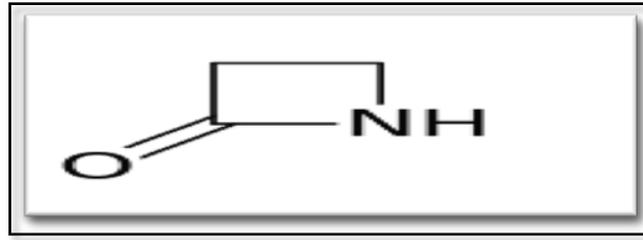


Figure 1: Structure chimique de noyau beta-lactame (Tidwell.,2008).

4.2. Classification :

4.2.1. Pénicilline :

Les membres de la classe de la pénicilline comprennent la pénicilline G, Pénicilline V, Oxacilline (dicloxacilline), Méthicilline, Nafcilline, Ampicilline, amoxicilline, carbénicilline, pipéracilline, Mezlocillin et Ticarcilline (Boundless, 2016).

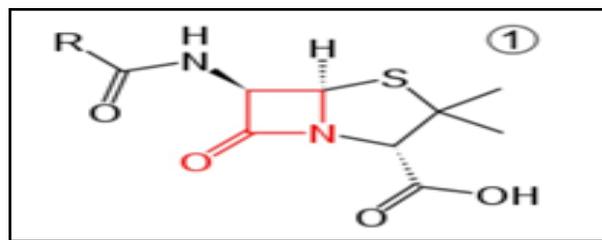


Figure 2: Structure chimique des pénicillines (Holten et Onusko.,2000).

4.2.2. Céphalosporine(Céphèmes) :

Les membres de ce groupe d'antibiotiques sont similaires à la pénicilline dans leur structure et leur mode d'action (Talaro et Chess.,2008). Les céphalosporines contiennent de l'acide 7-aminocéphalosporanique noyau et chaîne latérale contenant 3,6-dihydro-2 H-1,3-anneaux de thiazane (figure 3) (Pegler et Healy.,2007).

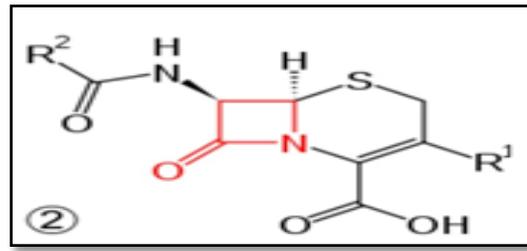


Figure 3: Structure chimique de céphalosporines (Holten et Onusko2000).

On distingue 4 générations :

- Les céphalosporines de première génération (C1G : céfalotine, céfalexine) sont plutôt actives sur les bactéries à Gram positif.
- Les céphalosporines de deuxième génération (C2G : céfuroxime, céfamandole) ont un spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif. Parmi les céphalosporines se situe une sous-famille que sont les céphamycines ou 7-a-méthoxy-céphalosporines.
- Les céphalosporines de troisième génération (C3G ou oxyimino-céphalosporines: céfixime, céfotaxime, ceftazidime) ont un spectre étendu à la plupart des entérobactéries et sur *Pseudomonas aeruginosa* pour la ceftazidime. Les C3G sont les antibiotiques de choix dans le traitement des infections sévères à entérobactéries.
- Les céphalosporines de quatrième génération (C4G :céfépime et cefpirome) sont des oxyimino-céphalosporines zwitterioniques relativement stables à l'hydrolyse des céphalosporinases de type AmpC (**Ruppé, 2010**).

4.2.3. Monobactames :

Ils font partie des composés bêta-lactamines, mais contrairement à la plupart des autres bêta-lactamines, l'anneau bêta-lactamine des monobactames seul et n'est pas fusionné à un autre anneau (figure 4) (**Bonner et Sykes, 1984; Sykes et Bonner, 1985**). Aztreonam est le seul antibiotique monobactame disponible en milieu hospitalier (**Ebimiewei et Ibemologi.,2016**).

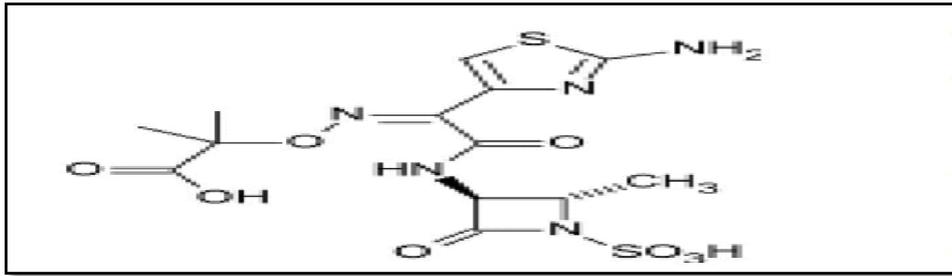


Figure 4 : Structure de Monobactame (Ebimieowei et Ibemologi,2016).

4.2.4. Carbapénèmes :

La thiénamycine serait considérée comme la première «Carbapénème» et sert de norme pour toutes les autres carbapénèmes (Papp-Wallace et al.,2011). Les carbapénèmes possèdent le plus large éventail d'activité et la plus grande puissance contre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. En conséquence, elles sont souvent appelés «Antibiotiques de dernier recours» et sont administrés aux patients infectés ou sont soupçonnés d'héberger des bactéries résistantes (Torres et al.,2007). Des exemples de carbapénèmes sont : Imipénèm, Méropénem, Ertapénèm (Brink et al.,2004).

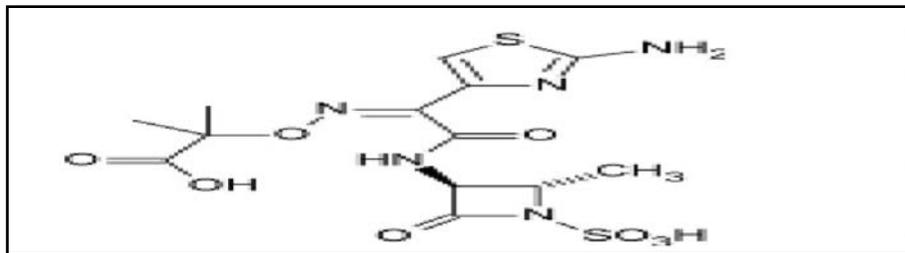


Figure 5: Structure de Carbapénème (Papp-Wallace et al., 2011).

4.2.5. Les inhibiteurs des β -lactamases:

Ce sont des β -lactamines de forte affinité pour certaines β -lactamases, mais qui ont une faible activité antibactérienne intrinsèque. L'acide clavulanique est utilisé avec l'amoxicilline dans l'Augmentin1 et la ticarcilline dans le Claventin, alors que le tazobactam est utilisé avec la pipéracilline dans la Tazocilline. L'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam ont un spectre d'inhibition limité aux pénicillinases (Ruppé.,2010).

4.3.Mode d'action :

Toutes les β -lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane (ou mucopeptide, ou muréine), qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Ce blocage est irréversible et intervient par inhibition de certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes, collectivement appelées protéines liant les pénicillines (PLP), sont insérées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne. Pour être actives les β -lactamines vont devoir atteindre leur cible en pénétrant dans la paroi bactérienne et se fixer sur les PLP. La connaissance de la structure de la paroi bactérienne permet de mieux comprendre le mécanisme d'action des β -lactamines qui imitent le site et inhibent de manière compétitive la réticulation peptidoglycane et, par la suite, les mécanismes de résistance des bactéries à ces antibiotiques (**Cavallo et al.,2004; Vollmer.,2008**).

5. Les aminoglycosides ou les aminosides :

5.1.Définition :

Les aminoglycosides sont des antibiotiques puissants à large spectre qui agissent par inhibition de la synthèse des protéines. La classe a été la pierre angulaire de la chimiothérapie antibactérienne depuis que la streptomycine a été isolée pour la première fois de *Streptomyces griseus* et introduite en usage clinique en 1944 (**M.Krause et al.,2016**).

Les aminoglycosides sont caractérisés par une structure centrale de sucres aminés reliés par des liaisons glycosidiques à un aminocyclitol dibasique, qui est le plus souvent la 2-désoxystreptamine. Les aminoglycosides sont généralement classés en quatre sous-classes en fonction de l'identité de la fraction aminocyclitol :

1. Pas de désoxystreptamine (par exemple, streptomycine, qui a un cycle streptidine).
2. Un cycle de désoxystreptaminemono-substitué (par exemple, l'apramycine).
3. Un cycle de désoxystreptamine 4,5-di-substitué (par exemple, néomycine, ribostamycine).
4. Un cycle désoxystreptamine 4,6-di-substitué (par exemple, gentamicine, amikacine, tobramycine et plazomicine) (**M. Krause et al.,2016**).

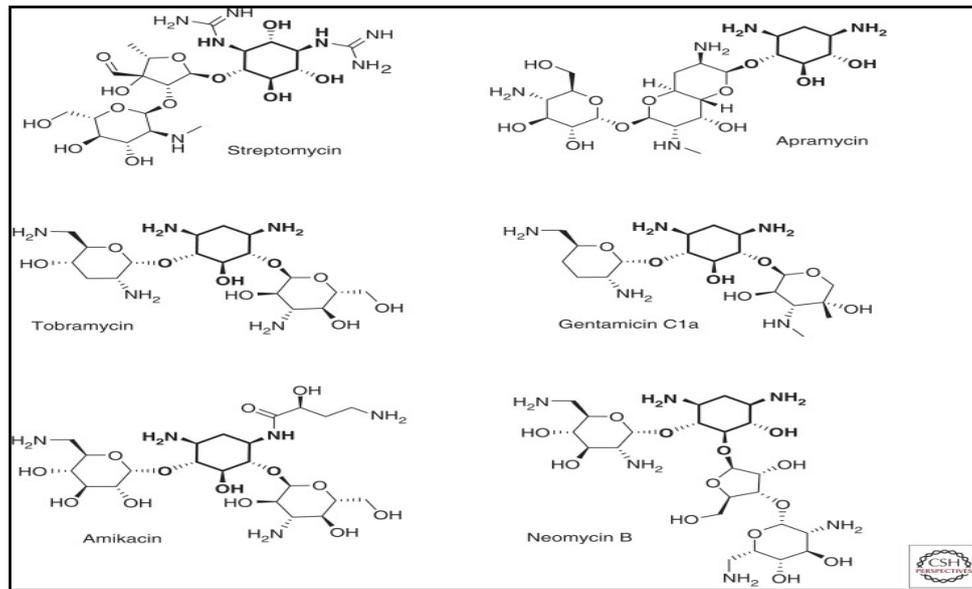


Figure 6 : Structures d'aminoglycosides représentatifs, y compris les aminoglycosides atypiques streptomycine et apramycine, 4,6-substitués AG stobramycine, gentamcine et amikacine, et la 4,5-substituée AG néomycine. Les anneaux de désostreptamine ou streptidine sont en gras (M. Krause et *al.*,2016).

5.2.Mode d'action :

Les aminoglycosides sont actifs contre divers organismes à Gram positif et à Gram négatif. Les aminosides sont particulièrement efficaces contre les membres de la famille des entérobactéries, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, *Providencia spp.*, *Proteus spp.*, *Morganella spp* et *Serratia spp*.

Les aminoglycosides inhibent la synthèse des protéines en se liant, avec une affinité élevée, au site A de l'acide ribonucléique ribosomal (ARNr) 16S du ribosome 30S (**Kotra et al.,2000**). Bien que les membres de la classe des aminosides aient une spécificité différente pour les différentes régions du site A, tous modifient sa conformation. En raison de cette interaction, l'antibiotique favorise la mauvaise traduction en induisant une mauvaise lecture du codon lors de la livraison de l'acide ribonucléique de transfert (ARNt) d' aminoacyle. Il en résulte une synthèse des protéines sujette aux erreurs, permettant à des acides aminés incorrects de s'assembler en un polypeptide qui est ensuite libéré pour endommager la membrane cellulaire (**M. Krause et al.,2016**).

6. Quinolone (fluoroquinolones) :

6.1.Définition et classification :

Les quinolones sont un groupe d'antibactériens synthétiques ayant une pertinence clinique majeure. Le composé fondateur et prototypique des quinolones, l'acide nalidixique, et peut être considérée comme la première génération des quinolones. La deuxième génération des quinolones c'est les fluoroquinolones (norfloxacin; la ciprofloxacine). Les modifications les plus importantes de la structure des quinolones ont été l'introduction d'un fluor en sixième position et d'un substituant majeur en septième position. La troisième génération contient levofloxacine, gatifloxacine et la quatrième génération ; moxifloxacine (**Correia et al.,2017**). Cette classe d'antibiotiques présente un effet bactéricide. Ils sont aussi capables de tuer des mutants doubles dans des souches apparentées (**Andersson M et MacGowan A.,2003**).

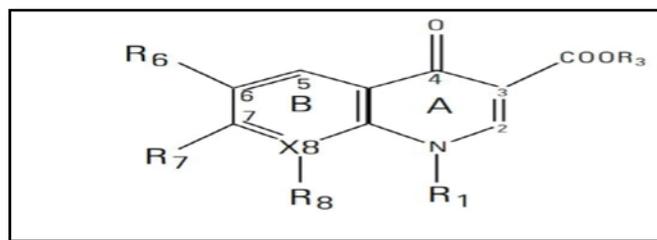


Figure 7 : Structure de base des quinolones (Cambau et Guillard,2012).

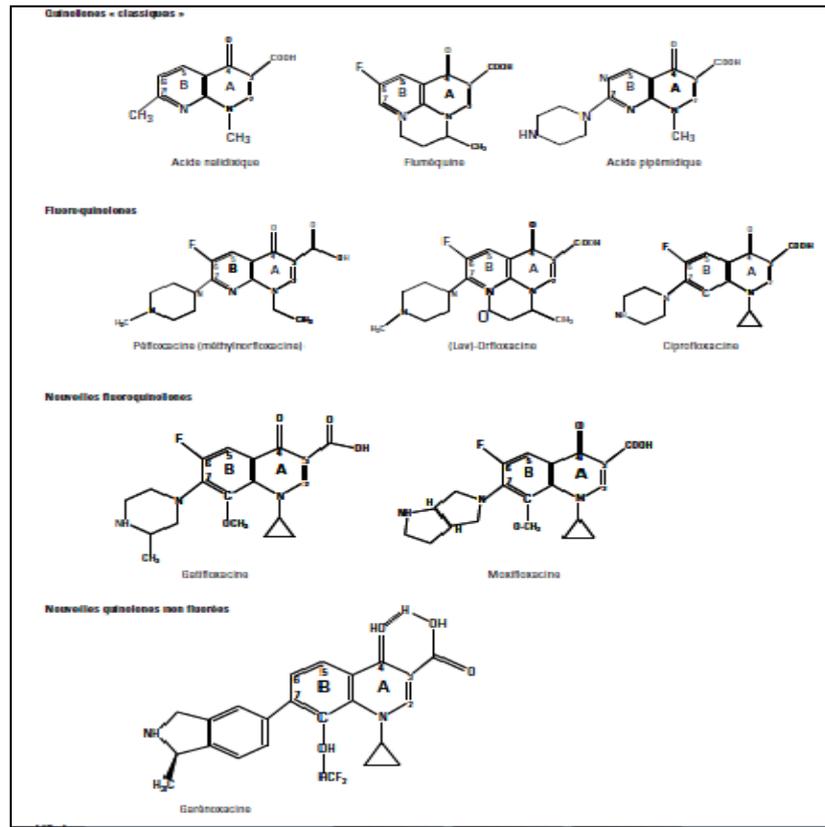


Figure 8 : Classification structurale des quinolones (Cambau et Guillard,2012).

6.2.Mode d'action :

Les quinolones inhibent l'action des topoisomérases de type II : l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. Ces enzymes sont essentielles à la croissance bactérienne en contrôlant la topologie de l'ADN lors des étapes de réplication, de transcription, et de recombinaison/réparation de l'ADN. Il est à noter que l'ADN gyrase est généralement la cible préférentielle chez les bactéries à Gram négatif tandis que la topoisomérase IV l'est chez les bactéries à Gram positif (Vincent.,2012).

7. Polymyxines :

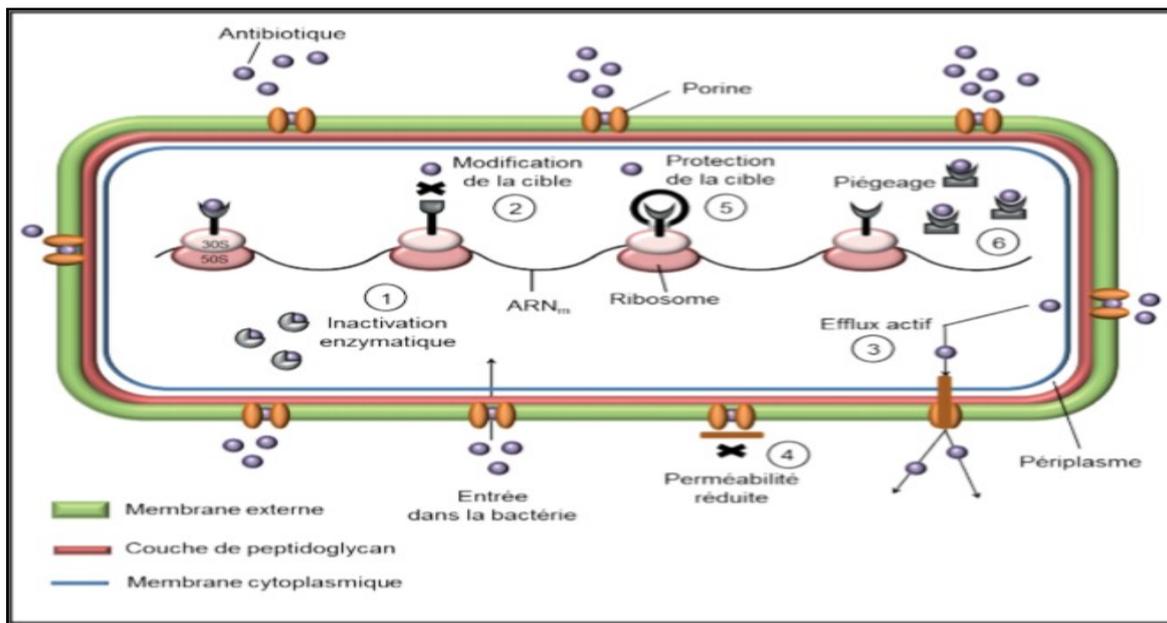
7.1.Définition :

Les polymyxines sont des antibiotiques naturellement produits par différentes espèces de *Paenibacillus (Bacillus) polymyxa*.

Chapitre 03 : Mécanismes de résistance chez les entérobactéries.

1. Définition :

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits (Muylaert et Mainil, 2012).



1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique.

Figure 10: Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie à Gram négatif (Muylaert et Mainil, 2012).

2. Résistance aux bêta-lactamines :

2.1. Résistances non enzymatiques :

2.1.1. Modification de la cible :

Des modifications des PLP par mutation ont été impliquées dans la résistance aux β -lactamines. Une diminution de la production de la PLP1A a été associée à la résistance à

l'imipénème et au mecillinam chez *Proteus mirabilis*. Ces mutations restent rares chez les entérobactéries (Robin et al.,2012).

2.1.2. Diminution de la perméabilité :

La modification ou la perte de porines est assez fréquente chez les entérobactéries (Robin et al.,2012).

2.1.3. Hyperproduction de système d'efflux :

L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études en particulier chez *Klebsiella pneumoniae*. Cependant ce type de mécanisme touchant préférentiellement la céfoxitine et les C2G semble difficile à distinguer du point de vue phénotypique des résistances par modification des porines (Robin et al.,2012).

2.2.Résistances enzymatiques: Production de β -lactamases

2.2.1. Pénicillinase acquise :

La production de pénicillinase acquise confère différents niveaux de résistance en fonction de la quantité d'enzyme produite. Le phénotype peut donc varier entre une résistance limitée aux amino et carboxypénicillines, qui nécessitera une interprétation des résultats des uréidopénicillines de sensible en intermédiaire, et une résistance à haut niveau à toutes les pénicillines associées ou non aux inhibiteurs de β -lactamases et aux C1G, voire celles de 2^{ème} génération. Dans de rares cas, l'hyperproduction de pénicillinase engendre une diminution de sensibilité à la ceftazidime, associée à une résistance à toutes les pénicillines, seules ou associées aux inhibiteurs et aux C1G et C2G (Robin et al.,2012).

2.2.2. β -lactamase à spectre étendu :

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes de classe A plasmidiques, qui présentent un potentiel de diffusion et une prévalence justifiant une surveillance épidémiologique. Elles confèrent une résistance à toutes les pénicillines, aux C1G et C2G et à au moins une C3/4G ou à l'aztréonam. La sensibilité aux associations pénicillines-inhibiteurs de β -lactamases est souvent conservée. Cependant, le phénotype de résistance varie avec la nature de la BLSE produite et selon leur niveau de production. L'association pipéracilline-tazobactam est l'association pénicilline-inhibiteur la plus souvent active. La mise en évidence

des BLSE repose sur la détection d'une synergie entre au moins une C3/4G ou l'aztréonam et le clavulanate (**Robin et al.,2012**).

2.2.3. Céphalosporinase de haut niveau :

L'hyperproduction d'une céphalosporinase confère une résistance à au moins une C3G. Une résistance est observée à toutes les pénicillines seules ou en association avec des inhibiteurs ainsi qu'à toutes les C2G et aux céphamycines. Les C4G ne sont généralement pas touchées. Ce phénotype est principalement observé chez les entérobactéries du groupe 3 en cas de dérépression partielle ou totale du gène codant leur céphalosporinase naturelle. L'acquisition de céphalosporinases plasmidiques peut engendrer le même phénotype de résistance. Leur production est alors constitutive sauf pour les enzymes plasmidiques DHA ou CFE dont le gène plasmidique est associé au gène de régulation ampR. Des images d'antagonisme sont observées pour les souches produisant ces familles d'enzymes (**Robin et al.,2012**).

2.2.4. Hyperproduction d'enzymes chromosomiques (autre que les céphalosporinases de classe C) :

Chez certaines espèces du groupe 2, du groupe 4 et chez toutes les espèces des groupes 5 et 6, l'hyperproduction de l'enzyme chromosomique par mutation du promoteur ou du système de régulation peut aboutir à des phénotypes proches voire identiques à ceux conférés par les BLSE plasmidiques sans présenter le même risque de diffusion épidémique (**Robin et al.,2012**).

2.2.5. Carbapénèmase

Trois familles principales de carbapénèmases sont retrouvées chez les entérobactéries :

- Carbapénèmase de type OXA-48/OXA-181 (β -lactamase de classe D).
- Carbapénèmases métallo-enzyme ou MBL (β -lactamase de classe D) : VIM, IMP, NDM.
- Carbapénèmase de type KPC : Les carbapénèmases de type KPC confèrent une résistance à toutes les β -lactamines, y compris les céphamycines, et à certains, voire tous les carbapénèmes. Bien qu'appartenant aux β -lactamases de classe A, elles sont peu inhibées par les inhibiteurs traditionnels tel que le clavulanate, mais sont

sensibles à l'action inhibitrice de certains acides boroniques qui sont parfois utilisés dans les tests de détection.

- D'autres carbapénèmases de classe A β (GES, IMI, Sme, NMC-A) (**Robin et al.,2012**).

3. Résistance aux aminoglycosides :

Comme chez les autres bacilles à Gram négatif, la résistance aux aminosides est essentiellement liée à la production d'enzymes inactivatrices. Les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur des plasmides, des transposons ou des cassettes au sein d'intégrons, facilitant leur rapide dissémination.

3.1.Inactivation enzymatique

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides qui agissent par inhibition de la synthèse protéique. Chez les entérobactéries, le mécanisme de résistance aux aminosides prépondérant est la synthèse d'enzymes modificatrices, le plus souvent supportées par des 35 éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons ou cassettes d'intégrons) (**Pantel.,2015**).

Ces enzymes sont classées en fonction de la réaction qu'elles catalysent :

- ✓ Aminoglycoside N-ACetyltransferase : **AAC**.
- ✓ Aminoglycoside O-Phosphotransferase: **APH**.
- ✓ Aminoglycoside O-NucleotidylTransferase: **ANT** (**Ramirez et Tolmasky.,2010**).

3.2.La méthylation de l'ARNr 16S :

Elle est récemment apparue comme un nouveau mécanisme de résistance contre les aminosides. Cet événement est médié par un groupe nouvellement reconnu d'ARNr 16S. Les méthylases, qui partagent une similitude modeste avec celles produites par les actinomycètes producteurs d'aminosides. Leur présence confère un niveau élevé de résistance à tous les aminoglycosides. Les gènes responsables sont principalement localisés sur des transposons au sein de plasmides transférables, ce qui leur donne le potentiel s'étendre horizontalement (**YoheiDoi et Yoshichika Arakawa.,2007**).

3.3.Mutation dans les protéines de l'ARNr 16S:

Les événements de modification post-transcriptionnelle des acides ribonucléiques(ARN), tels que la méthylation des nucléosides, ont lieu après la génération des transcrits d'ARN initiaux. Ils sont principalement signalés dans l'ARNt, mais ils sont également signalés dans l'ARNr. Les rôles principaux de la méthylation de l'ARNr incluent probablement la modulation de la maturation de l'ARNr, la stabilisation des structures de l'ARNr et l'altération des taux de traduction (YoheiDoi et Yoshichika Arakawa.,2007).

3.4.Pompe d'efflux :

C'est une résistance acquise et rare, les aminosides n'étant pas des substrats habituels des pompes d'efflux ; cependant, des mutations entraînant la surexpression de ces systèmes peuvent engendrer une résistance (A. Reynaud et L. Crémet.,2015).

4. La résistance aux quinolones :

4.1.Résistance chromosomique :

Le support de la résistance aux quinolones était supposé être uniquement chromosomique jusqu'en 1998 (Guessennd et al.,2008), généralement due à une diminution d'affinité de l'antibiotique pour sa cible. Ceci est dû à une modification de l'ADN gyrase et/ou de la topoisomérase IV par mutations ponctuelles. Les mutations apparaissent quasi exclusivement dans de courtes régions conservées des deux protéines appelées « quinolone resistance-determining regions » (QRDR). Un phénotype de résistance, en général de bas niveau, peut être dû à une diminution d'accumulation intracellulaire de l'antibiotique par imperméabilité et/ou efflux actif. Le mécanisme d'imperméabilité est dû à une modification qualitative et/ou quantitative d'une porine de la membrane externe des bactéries à Gram négatif impliquée dans l'entrée de fluoroquinolones hydrophiles. L'efflux actif, dû à l'hyper-expression de systèmes de pompes d'efflux par mutations au niveau des régulateurs, confère généralement un phénotype de résistance croisée à plusieurs familles d'antibiotiques de structures différentes (Vincent,2012).

4.2.Résistance plasmidique :

Récemment, des mécanismes de résistance plasmidique ont été décrits chez les bactéries à Gram négatif, généralement associés aux mécanismes chromosomiques. Il y a trois types de

résistance plasmidique décrits à ce jour : la protection de la cible due aux protéines Qnr décrite en 1998, l'inactivation enzymatique due à l'acétyltransférase AAC(6')-Ib-cr identifiée en 2005 et l'efflux actif médié par la pompe QepA rapporté en 2007 (**Vincent,2012**).

5. Résistance aux Polymyxines

5.1.Résistance chromosomique :

Une des stratégies les plus utilisées correspond à des modifications du LPS. Ces modifications ont toutes pour but de diminuer la charge négative du LPS, essentiellement via l'ajout de résidus chargés positivement, entraînant ainsi une répulsion des polymyxines, elles-mêmes chargées positivement (**Velkov et al.,2013**). D'autres stratégies sont également utilisées comme la synthèse d'une capsule ou l'expression de certaines pompes d'efflux (**Dortet et al.,2016**).

5.1.1. Modifications du LPS :

Ces altérations du LPS font intervenir des modifications covalentes du lipide A telles que :

- L'addition de groupements phosphate, phosphoéthanolamine (pEtN) ou 4-amino-4-désoxy-L-arabinose (L-Ara4N) ;
- La déacylation.
- L'hydroxylation d'une des chaînes lipidiques.

Ainsi, les principaux mécanismes de résistance à la colistine correspondent dans la majorité des cas à des altérations des gènes : mutations, délétion, insertion (**Dortet et al.,2016**).

5.1.2. Synthèse d'une capsule :

Il a été démontré que les polysaccharides capsulaires (PSCs) étaient capables de se lier aux polymyxines. Ainsi, le relargage de ces PSCs permettrait de titrer les polymyxines et participerait à la résistance en limitant l'accès de ces molécules à la surface de la bactérie où se situe leur cible (**Llobet et al.,2008**).

Ainsi, il a été démontré que la surexpression des gènes impliqués dans la biosynthèse de la capsule aurait un impact sur la résistance aux polymyxines (**Dortet et al.,2016**).

5.1.3. pompes d'efflux :

De rares études ont montré que la surexpression de certaines pompes d'efflux pouvait contribuer à la résistance aux polymyxines. Parmi ces pompes d'efflux on retrouve AcrAB et KpnEF (Dortet et *al.*,2016).

Etude Expérimentale

Matériel et méthodes

1. Lieu de l'étude :

Cette étude a été réalisée, au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée à l'agro-alimentaire au biomédical et à l'environnement LAMAABE, durant la période Février-Mars de l'année 2020.

1.1.Souches étudiées :

L'ensemble des souches provenant des prélèvements effectués à partir de patients hospitalisés dans différents services de CHU de Tlemcen (réanimation, chirurgie A, traumatologie et médecine interne) ont été incluses.

2. Matériel :

Pour effectuer les différentes étapes de notre travail expérimental, on utilise :

2.1.Les échantillons :

Ecouvillonnage des plaies, sondes urinaires, sondes endotrachéales et urine.

2.2.Appareillage :

Agitateur électrique, autoclave, bec benzène, bain marie, balance analytique, étuves, four Pasteur, micropipettes, mortier, plaque chauffante, réfrigérateur.

2.3.Verreries et petit matériel :

Anse de platine, système d'identification API 20.E, béchers, boîtes pétri, éprouvettes, flacons en verre de 250 ml, lames, pince, pipettes Pasteur, portoir des tubes, tubes à essai.

2.4.Réactifs et produits chimique :

Les produits chimiques et les réactifs utilisés au cours de cette étude sont : Nitrate réductase I et II, réactif de Kovacs, réactif TDA, Réactif de Vogues-Proskauer (VPI et VPII) et l'huile de paraffine.

2.5. Disques d'antibiotiques :

Les antibiotiques utilisés sont: Ampicilline (AMP), Amoxicilline (AMX), Amoxicilline-acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Pipéracilline (PRL), Céfazoline (CZ), Céfotaxime (CTX), Céftriaxone (CRO), Imipénème (IMP), Amikacine (AK), Gentamicine (GN), Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP), Colistine (CT), Triméthoprim- sulfaméthoxazole (SXT), Fosfomycine (FOS) et Chloramphénicol (C).

2.6. Milieux de culture :

Les milieux utilisés sont nombreux, leurs compositions sont mentionnées en ANNEXE :

Les géloses: Gélose nutritive, Mac ConKey, Mueller-Hinton.

Les bouillons: Bouillon nutritif.

3. Méthode :

3.1. Prélèvement :

Les prélèvements ont été effectués, entre février et mars 2020, dans différents services ; réanimation, chirurgie, traumatologies et les services de médecine interne aux CHU de Tlemcen. Ces prélèvements ont été réalisés à partir de divers sites sur patients hospitalisés (aspiration trachéale, écouvillonnage, sonde urinaire), puis acheminés au laboratoire dans des tubes à essai sec et stériles.

3.2. Ensemencement :

Après enrichissement des souches et incubation de 24h dans l'étuve réglée à 37°C, nous avons prélevé à partir de chaque tube une goutte à l'aide d'une anse de platine flambée à la flamme, que l'on ensemence sur la gélose macconky.

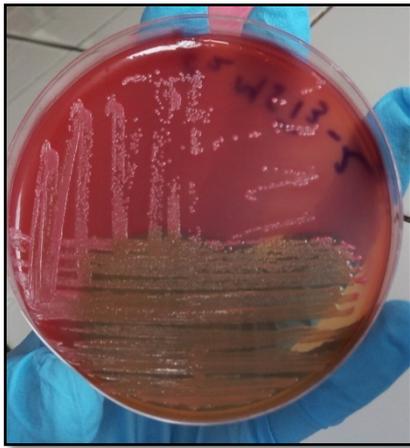


Figure 11 : Boite pétri avec gélose macconky avec l'apparition des colonies après l'incubation (photo personnelle)



Figure 12: Tubes de pré-enrichissement (photos personnelles)

3.3.Purification :

La purification se fait toujours sur le même milieu macconky. Cette étape correspond à la séparation des colonies de différentes souches.

On incube les boîtes dans l'étuve réglée à 37°C pendant 24 h.

3.4.Identification :

L'identification des souches a été réalisée en 2 étapes :

3.5.Appréciation ou observation macroscopique:

Elle permet d'observer l'aspect, l'odeur, la couleur, la consistance des colonies et le virage de la couleur du milieu de culture sélectif utilisé.

3.6.Identification biochimique :

3.6.1. Galerie API 20E :

Est un système standardisé des techniques biochimiques conventionnelles pour identifier les bacilles à gram négatif, dont les entérobactéries. Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne

Matériel et méthode

saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h-24h à 37°C) se traduisaient par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.



Figure 13 : Galerie API 20E (photo personnelle)

a. Préparation de la galerie API :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 mL d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.

b. Préparation de l'inoculum :

- introduire quelques ml d'eau distillée stérile dans un tube à vis stérile.
- prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

c. Inoculation de la galerie :

- Remplir les tubes et les cupules des tests CIT, VP, GEL,
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Il faut remplir les boîtes d'incubation des tubes des tests avec un peu d'eau pour éviter la dessiccation lors de l'incubation
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 - 37° C pendant 18 à 24 heures.

d. Lecture de galerie :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture. Trois tests nécessitent l'addition de réactif :

- Test tryptophane désaminase (TDA) : on ajoute une goutte de réactif TDA
- Test indole (IND) : on ajoute une goutte de réactif JAMES
- Test Voges-Vroskaure (VP) : on ajoute une goutte de réactif VP1 et VP2.

e. Interprétation de la galerie et identification :

Après incubation, la lecture de la galerie est visuelle, après addition ou non de réactifs spécifiques pour lire les résultats de certains tests biochimiques. L'interprétation des résultats des tests est obtenue en consultant le tableau de lecture de la galerie ; les résultats sont ensuite relevés sur la fiche de résultats.

L'identification est obtenue à partir du profil numérique, qui est toujours établi à partir de la fiche de résultats suivant le même principe.

Plus précisément, sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupe de trois et une valeur 1,2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.

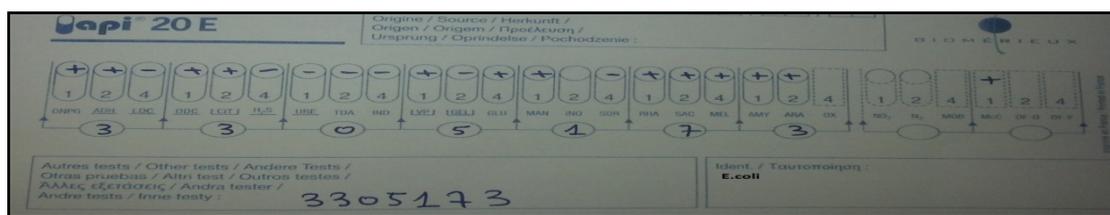


Figure 14 : Fiche de résultat de la galerie API 20 E montre le profil numérique d'*Escherichia coli* (photo personnelle).

3.7. Conservation des souches :

Les souches sont conservées à 4 C° dans des tubes de gélose inclinée.

3.8. Antibiogramme :

3.8.1. Principe:

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en gélose (méthode des disques). Cette méthode est basée sur le principe de la courbe de correspondance entre les valeurs critiques des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en mg/l et des mesures des diamètres d'inhibition.

3.8.2. Technique:

A partir d'une culture pure de 18-24 h sur milieu gélosé Mueller-Hinton, une suspension de 5ml de solution saline (0,9 % NaCl) a été préparée. A partir de cette suspension bactérienne pure, une dilution au 1/10 dans l'eau physiologique (0,9 %NaCl) a été réalisée et bien homogénéisée; puis ensemencée par écouvillonnage sur des boîtes de Pétri de Mueller-Hinton.

3.8.3. Application des disques d'ATB:

Les disques d'antibiotiques en cartouches sont disponibles. Après 15 min de séchage des boîtes, les disques choisis sont posés à la pince flambée. Les disques sont appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose. L'ensemble est porté à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37 °C.

3.8.4. Lecture:

La lecture se fait par mesurer avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition, en comparaison ces résultats aux valeurs critiques. Le diamètre des zones d'inhibition est interprété en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R).

Résultats et discussion

1. Résultat :

1.1.Prélèvements :

Durant la période d'étude, sur 29 patients hospitalisés plus de 48 heures, 33 prélèvements cliniques ont été effectués aux différents services du CHU de Tlemcen.

1.2.Souches identifiées :

Sur les 33 prélèvements, 32 ont présenté une culture positive.

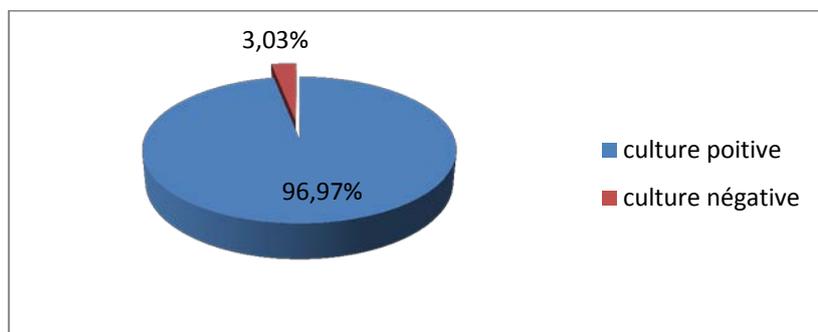


Figure 15 : Pourcentage de culture positive et de culture négative.

Sur un total de 32 bacilles à Gram négatif (BGN), ont été identifiées 18 entérobactéries, ce qui correspond à une fréquence d'isolement de 56,25% (18/32), 9 *Pseudomonas aeruginosa* (9/32), soit 25,12% et 5 *Acinetobacter baumannii* (5/32) soit 15,62%.

Les entérobactéries occupent la première place qui prédomine parmi les 32 BGN identifiés.

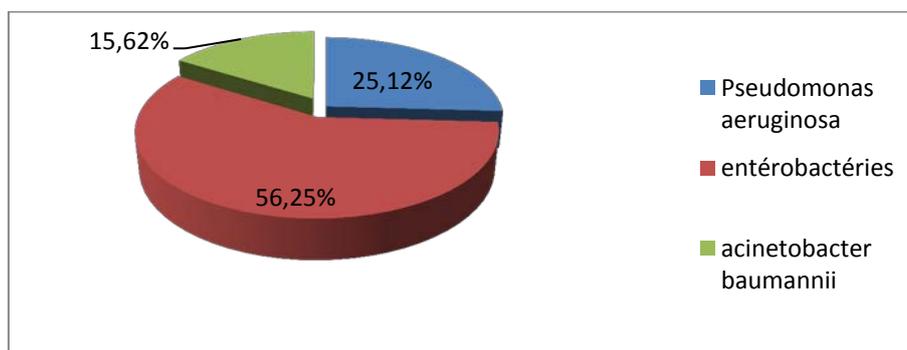


Figure 16: Pourcentage de bacilles à Gram négatif.

1.3.L'aspect macroscopique :

1.3.1. Aspect des colonies:

A partir de différents prélèvements, l'isolement des souches sur le milieu Mac Conkey a permis d'examiner la morphologie des colonies. Certaines colonies se présentent sous une forme granulaire, d'autres ont un aspect muqueux. Leur diamètre est compris entre 1 et 2,5 mm, exception faite pour *E.coli* qui donne parfois des colonies naines.



Figure 17: Aspect macroscopique des colonies sur milieu Mac Conkey (Photos personnelles).

1.4. Identification biochimique des souches

Par rapport au total d'isolats d'entérobactéries étudiées, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* occupent la première place avec 5 souches, suivie de 4 souches de *Escherichia coli* et de *Serratia marcescens*.



Figure 18 : Galerie API20.E identificatrice de *Klebsiella pneumoniae* (photo personnelle).



Figure 19: Galerie API20.E identificatrice d'*Enterobacter cloacae* (photo personnelle).



Figure 20: Galerie API20.E identificatrice de *Serratia marcescens* (photo personnelle).

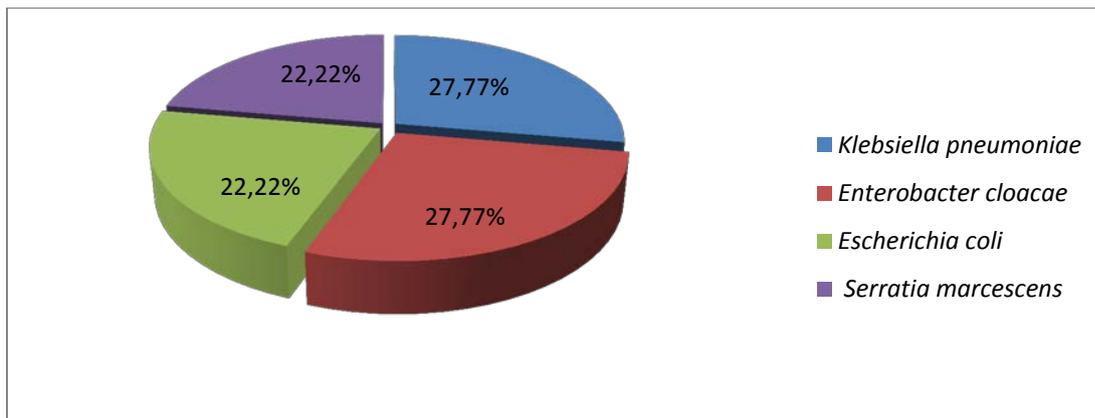


Figure 21: Répartition des isolats.

1.5. Répartition des entérobactéries en fonction de service :

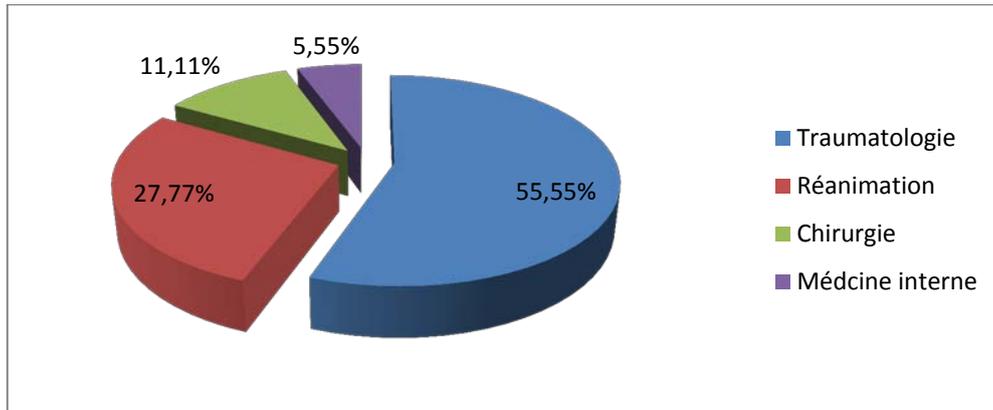


Figure 22: Répartition des entérobactéries en fonction de service.

La répartition des entérobactéries en fonction de service (Figure 22), montre que le service de traumatologie est le service le plus contaminé car il contient 55,55% des Entérobactéries isolés et le service de Médecine interne est le moins contaminé car il contient que 5,55% d'Entérobactéries.

1.6. Répartition des entérobactéries en fonction de la nature de prélèvement :

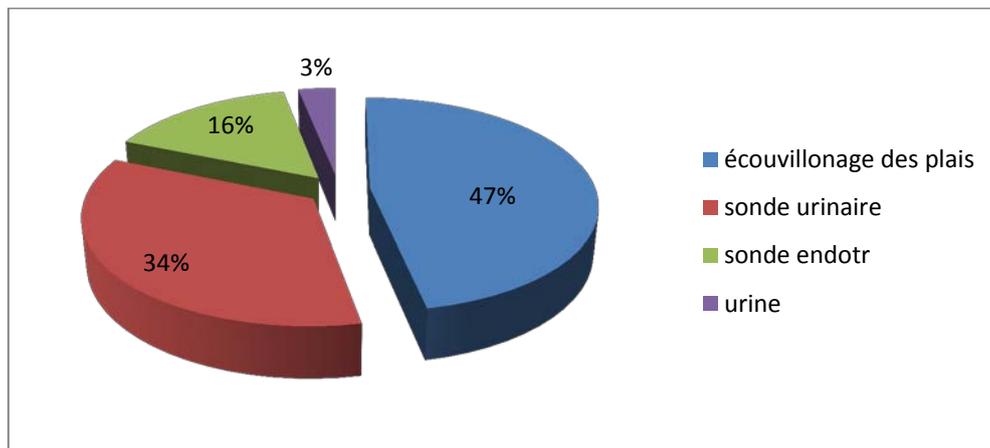


Figure 23: Répartition des entérobactéries en fonction des sites de prélèvement.

La répartition des sites de prélèvement présentée dans la figure 23, montre que le taux d'isolement à partir des écouvillons est le plus important (47%), suivis des sondes urinaires (34%), puis les prélèvements des sondes endotrachéales (16%), et enfin les urines (3%).

Résultats et discussion

1.7. Distribution des souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce et de l'origine :

Tableau 1: Répartition de 18 souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce et de la provenance du prélèvement :

	Traumatologie	Réanimation	Chirurgie A	Médecine interne	Total
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0 (0,00%)	4 (22,22%)	0 (0,00%)	1(5.55%)	5(27,77%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	3 (16,66%)	1(5.55%)	1(5.55%)	0 (0,00%)	5(27,77%)
<i>Escherichia coli</i>	3(16,66%)	0 (0,00%)	1(5.55%)	0 (0,00%)	4(22,22%)
<i>Serratia marcescens</i>	4 (22,22%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	4(22,22%)
Total	10 (55,55%)	5 (27,77%)	2 (11,11%)	1(5.55%)	18(100%)

1.8. Distribution des souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce et du type de prélèvement :

Tableau 2 : Répartition de 18 souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce et de type de prélèvement :

	Sonde urinaire	Sonde endotrachiale	Ecouvillonnage des plaies	Urines	Total
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3 (16.66%)	1 (5.55%)	1 5.55%	0 (0.00%)	5 (27.77%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	5 (27.77%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	5 (27.77%)
<i>Escherichia coli</i>	2 (11.11%)	0 (0.00%)	1(5.55%)	1(5.55%)	4 (22.22%)
<i>Serratia marcescens</i>	1 (5.55%)	0 (0.00%)	3 (16.66%)	00.00%	4 (22.22%)
Total	11	1 (5.55%)	5 (27.77%)	1(5.55%)	18(100%)

1.9. Caractéristiques des patients : âge et sexe :

L'âge des 16 patients porteurs d'une souche d'Entérobactérie varie de 19 ans à 86 ans avec un âge médian de 46 ans.

La durée de séjour des patients à l'hôpital est variable dans l'intervalle: 3 jours à 15 jours.

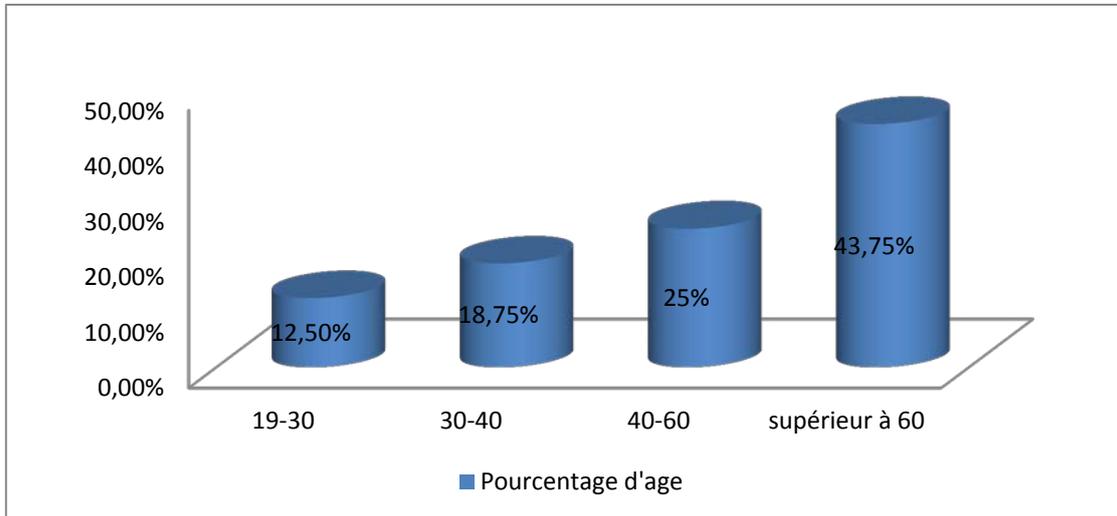


Figure 24: Moyennes des cas positifs selon la tranche d'âge.

D'après l'histogramme (figure 24), le pourcentage des cas positifs aux entérobactéries le plus élevé (43,75%) est constaté avec la tranche d'âge plus de 60 ans. La fréquence de l'infection semble augmenter avec l'âge. Les facteurs intervenant dans l'augmentation de l'incidence des infections aux entérobactéries chez les personnes âgées sont multiples: baisse des défenses immunitaires, effet des médicaments, déshydratation (particulièrement pour les infections urinaires).....

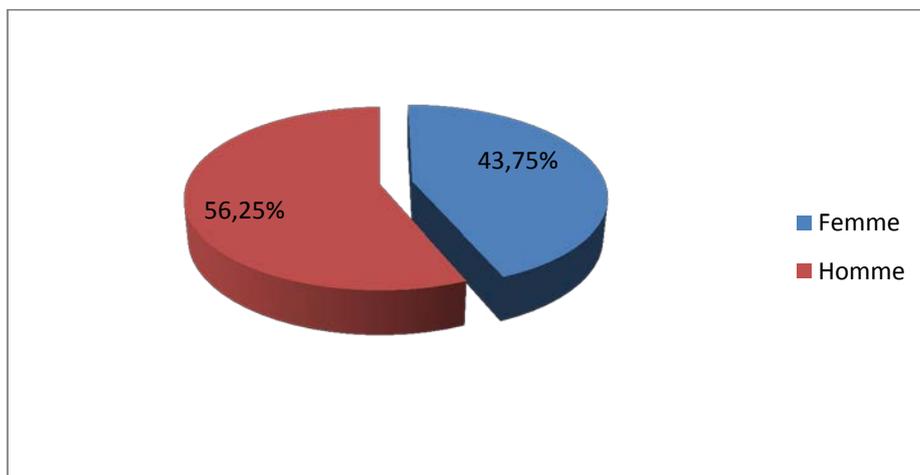


Figure 25: Répartition globale des échantillons selon le sexe.

La figure 25 montre que les infections aux entérobactéries au niveau des services du CHU touchent plus la population masculine 56,25% que la population féminine qui ne représente que 43,75%.

1.10. Détermination du profil d'antibiorésistance :

La détermination de la résistance aux antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton.

A cause de la pandémie due au Coronavirus et de sa large propagation, nous n'avons pas pu terminer notre partie expérimentale et par conséquent nous n'avons pas fait l'antibiogramme.

2. Discussion :

Nos souches ont été isolées dans différents services hospitaliers (Médecine interne, Chirurgie, Traumatologie, Réanimation), mais le service de traumatologie semble être le plus incriminé car 55,55 % des souches proviennent de ce service suivi par le service de réanimation 27,77% ; puis le service de chirurgie par 11,11% et le service de Médecine interne est le moins incriminé (5,55%). **Souna en 2011**, a trouvé qu'au niveau du service de réanimation, 39 souches d'entérobactéries (27.8%) ont été isolées, 37 souches (26.4%) ont été collectées au niveau du service de chirurgie et 64 souches (45.7%) ont été isolées à partir de divers services et **Mellouk (2017)** qui a cité que le service de médecine interne semble être le plus incriminé car 26 % des souches proviennent de ce service. **Ould baba ali et Taibi (2019)** qui ont trouvé que le service des maladies infectieuses semble être le plus incriminé car 48.12% des souches proviennent de ce service.

Les résultats montrent la prédominance des entérobactéries avec une fréquence de (54.54%), par rapport aux autres BGN. Elles sont suivies par *Pseudomonas aeruginosa* avec (27,27%).Le pourcentage le plus faible est constaté avec *Acinetobacter baumannii* (15.15%). **Essayegh et son équipe (2014)** ont trouvé que les entérobactéries prédominaient avec une fréquence d'isolement de 35,7% suivies par *Acinetobacter baumannii* avec 22,2%, puis *Pseudomonas aeruginosa* avec 15,1%.

Parmi les entérobactéries trouvées, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* occupent la première place avec 27,77%, suivie de 22,22% d'*Escherichia coli* et de *Serratia marcescens*. **Essayegh et son équipe (2014)** ont trouvé que *Klebsiella pneumoniae* occupe la première place dans les entérobactéries (10,3%), suivie d'*Enterobacter cloacae* (8,7%) puis *Serratia marcescens* (2,4%) et en dernier *Escherichia coli* (1,6%). **AYAD (2011)** a trouvé que *Escherichia coli* occupe la première place avec 40.2%, suivie de *Klebsiella pneumoniae* 39.3% puis *Enterobacter cloacae* 12.5%.

Nos résultats montrent que 47% des souches sont isolées à partir de plaie opératoire, 34% à partir de sondes urinaire, 16% à partir de sondes endotrachéale et 3% à partir des urines. **Bahlouli et Idiri (2015)** ont trouvé que la quasi-totalité des souches collectées (95,1%) sont isolées à partir de prélèvement urinaire.

Résultats et discussion

Les deux sexes sont touchés par les infections nosocomiales des entérobactéries mais la population masculine semble la plus touchée dans notre étude avec une fréquence de 56,25% (9/16) par rapport à la population féminine qui ne représente que 43,75% (7/16).

Ces résultats sont expliqués par la prédominance des hommes au niveau des services (réanimation, chirurgie, traumatologies et le service de médecine interne). **Ait Hadi et Boulghit (2016)** ainsi **Bouzeraa et Berrihil (2018)** ont trouvé que les entérobactéries touchent plus la population masculine avec une fréquence de 55,14% (102/185) par rapport à la population féminine qui ne représente que 44,86%. Par contre, **Madi et Djema (2019)** ont noté une prédominance des souches chez le sexe féminin avec un pourcentage de 53% (41/77) contre 47% (36/77) chez le sexe masculin.

Les tranches d'âges sont touchées par les infections avec des extrêmes d'âge variant entre 19 ans à 86 ans. La tranche d'âge qui semble la plus touchée dans notre étude est la population des personnes âgées (plus de 60ans : 43,75%), suivie par la population de (40-60ans : 25%). **Bouzeraa et Berrihil (2018)**, ont trouvé que le pourcentage des cas positifs aux entérobactéries le plus élevé (34,59%) est constaté avec la tranche d'âge de plus de 60 ans. Par contre **Mellouk (2017)**, a trouvée que la a tranche d'âge qui semble la plus touchée est la population des personnes âgées de 18-50 ans (58,60%), suivie par la population de plus de 50 ans (25%).

Au CHU de Tlemcen entre octobre 2008 et juin 2009, l'analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines des entérobactéries montre une nette dominance des souches productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (67%). Parmi les entérobactéries présentant ce phénotype 10.7% produisent également une céphalosporinase constitutive. L'hyperproduction de céphalosporinase comme seul mécanisme de résistance est observée chez seulement 5.4% des souches. La production de pénicillinases est exclusivement observée chez 10.7% des souches. Enfin, 17% d'entérobactéries, n'ont présenté aucune résistance acquise, donc considérées comme «sauvages » (**Ayad, 2011**). Ces résultats sont différents à ceux de l'étude de **SOUNA** au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes en **2011** qui a trouvée que l'analyse phénotypique des espèces d'entérobactéries est en faveur d'une production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) soit 37.1%, Parmi ces souches, (14.3%), produisent également une céphalosporinase associée contre seulement 4.3% pour la céphalosporinase hyperproduite, et 25% des souches productrice de pénicillinase, Le reste des souches (33.6%) ont présenté le phénotype sauvage. Par ailleurs, l'étude de **TERKIA**

Résultats et discussion

DERDRA en 2013, le phénotype de BLSE a été observé avec un pourcentage de 36.11%. La production de la céphalosporinase a été observée avec un pourcentage de 16.66% et la production d'une céphalosporinase associée au phénotype BLSE a été observée avec un pourcentage de 19.44%. Les souches qui ont présenté une sensibilité vis-à-vis des B-lactamines et des autres antibiotiques sont considérées comme souches sauvages, leur pourcentage a été de 22.22%.

Conclusion

Conclusion

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. Elle peut toucher toute personne, à n'importe quel âge et dans n'importe quel pays. De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent dans le monde entier, compromettant notre capacité à traiter les maladies infectieuses courantes.

Les entérobactéries sont fréquemment la cible thérapeutique d'antibiotiques et notamment la famille des β -lactamines. Depuis le début de l'utilisation de cette famille d'antibiotiques, ces organismes ont développé des mécanismes de résistance contre ces molécules, notamment par l'acquisition de gènes codant pour des β -lactamases.

Notre étude a montré dans un premier temps un taux très important d'infection causée par les entérobactéries au niveau de CHU de Tlemcen avec un pourcentage de 56,25%.

Dans un second temps, l'analyse des différents prélèvements réalisés à partir de divers sites sur des patients hospitalisés a montré une forte diversité des germes de la famille des entérobactéries, les 2 espèces les plus isolées sont *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* ; le service de traumatologie est le plus contaminé et la population masculine semble la plus touchée.

Une première approche dans la lutte contre l'antibiorésistance implique les études de prévalence des souches multi-résistantes circulant dans les milieux hospitaliers ainsi que leur sensibilité aux antibiotiques. Ainsi, les études menées un peu partout dans le monde ont surtout incriminé les bacilles à Gram négatif, notamment les entérobactéries. Ces dernières expriment un taux élevé de résistance acquise à la majorité d'antibiotiques.

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

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

1. ACHKOUR Zineb. (2012). Emergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. Thèse de doctorat. UNIVERSITE MOHAMMED V , FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-.
2. AHMANACHE, Sonia et KACI, Ouahiba. (2019). Etude de la résistance des bacilles à Gram négatif aux β -lactamines à partir de divers prélèvements pathologiques (MEMOIRE DEMASTER). UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA.
3. Ait Hadi S., et Boulguit K. (2016). Les infections bactériennes (aux entérobactéries chez les grands brûlés, au centre des grands brûlés, de l'hôpital central de l'armée. [thèse de master]. Alger: Université Houari Boumediene ; page 27.
4. Andersson, M.I. and MacGowan, A.P. (2003). Development of the quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51 Suppl, 1: 1-11.
5. Ayad, A. (2011). Etude la résistance aux antibiotiques des entérobactéries a CHU Tlemcen (Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie). Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
6. Bahlouli, Samia. Idiri, Narima (2015). Criblage de souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases au niveau des laboratoires d'analyses médicales de la wilaya de Béjaia (MEMOIRE DE MASTER). Université A. MIRA - Bejaia
7. Bakhom I. (2004). Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 113p.
8. Belmonte, O., Drouet, D., Alba, J., Moiton, M.-P., Kuli, B., Lugagne-Delpon, N., ... Jaffar-Bandjee, M.-C. (2010). Évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la Réunion : émergence des bêta-lactamases à spectre élargi. *Pathologie Biologie*, 58(1), 18–24. doi:10.1016/j.patbio.2009.07.021
9. Boundless (2016). Antibiotic Classifications. Boundless microbiology. <https://www.boundless.com/microbiology/textbooks/boundless-microbiology-textbook/antimicrobial-drugs-13/overview-of-antimicrobial-therapy-153/antibiotic-classifications-775-4905/>. Accessed September 13, 2016.
10. Bouzeraa A et Berrihil H. (2018). Bactériologie des Entérobactéries isolées au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). [thèse de master]. Constantine. Université Frères Mentouri Constantine 1; page 38

Références bibliographiques

11. Brink A. J., Feldman C., Grolman D. C., Muckart D., Pretorius J., Richards G. A., Senekal M. & Sieling W. (2004). Appropriate use of the carbapenems. SAMJ. 94(10):857-861.
12. Cambau E. et Guillard T. (2012). Antibactériens agissant sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 2012, 31(1), 65-76.
13. Michael Janda et Sharon L. Abbott. (2006). The Genus *Hafnia*: from Soup to Nuts. Vol. 19, No. 1. REVIEWS, Jan. 2006, p. 12–18. Doi: 10.1128/CMR.19.1.12–28.2006
14. Carle Sylvie. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. (Vol. 42 Supplément 2). 2009.
15. Cavallo J.D., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabé E. 2004. Bêta-lactamines. EMC- Maladies Infectieuses, 1:129-202.
16. Cécile Okalla Ebongue, Martial Dongmo Tsiazok, Jean Pierre NdaMefo'o, Guy Pascal Ngaba, Gérard Beyiha, et Dieudonné Adiogo. 2015. Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar]. DOI : 10.11604/pamj.2015.20.227.4770
17. Cours de Bactériologie. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de médecine. 2003. p 61-62.
18. Denis F, Poly MC, Martin C, Bingen E, Quentin R In Bactériologie médicale : techniques usuelles. 2007, Edition MASSON ,295.
19. Dortet L, R. Bonnin , A. Jousset , L. Gauthier , T. Naas. Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance. Journal des Anti-infectieux (2016) 18, 139—159.
20. Ebimiewei Etebu et Ibemologi Ariekpar (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. IJAMBR 4 (2016) 90-101.
21. Essayagh M, Essayagh T, Essayagh S, et El Hamzaoui. Épidémiologie de l'infection des plaies des brûlés de Rabat, Maroc : expérience de trois ans. Med Sante Trop 2014 ; 24 : 157-164. doi:10.1684/mst.2014.0315.
22. Falagas ME, P.K. Kavvadia, E. Mantadakis, D.P. Kofteridis, I.A. Bliziotis, E. Saloustros, S. Maraki, G. (2006). *Morganella morganii* Infections in a General Tertiary Hospital Infection 2006; 34: 315–321. DOI : 10.1007/s15010-006-6682-3.

Références bibliographiques

23. FRANCINE GRIMONT et PATRICK A. D. GRIMONT *Prokaryotes* (2006) 6:219–244
DOI: 10.1007/0-387-30746-x_11.
24. GADOU VICTOIRE. (2019). *Epidémiologie moléculaire des Entérobacéries productrices de β -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans les districts d'Abidjan, CÔTE D'IVOIRE*. Thèse de doctorat. Université Félix HOUPHOUET BOIGNY.
25. Gazengel Jean_Marie. Orecchioni Anne_Marie. (2013). *Le préparateur en pharmacie*. Lavoisier, Paris : Chantal Arpino
26. Gendrin.V. (2012). *Fosfomycine*. EMC-Maladies infectieuses (Volume9. n°2).
Doi : 10.1016/S1166-8598(12)50182-1
27. German GJ, M Gilmour, G Tipples, HJ Adam, H Almohri, J Bullard....., MR Mulvey. Énoncé canadien définissant la multi-résistance et l'ultra-résistance chez les souches d'entérobactéries, d'*Acinetobacter* spp. et de *Pseudomonas aeruginosa* pour les laboratoires médicaux.(Volume 44-1).2018.
28. Guessenda.N, Bremontb.S, Gbonona.V, Kacou-NDoubaa. A, Ekazaa. E, Lambertb. T, Dossoa. M, Courvalinb (2008). Résistance aux quinolones de type qnr chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d'Ivoire. *Pathologie Biologie* 56 (2008) 439–446.doi: 10.1016/j.patbio.2008.07.025.
29. Janda Michael and Sharon L. Abbott. *The Genus Hafnia: from Soup to Nuts*. (Vol. 19, No. 1). 2006. doi: 10.1128/CMR.19.1.12-28.2006.
30. Jean_Marie Gazengel. Anne_Marie Orecchioni. (2013). *Le préparateur en pharmacie*. Lavoisier, Paris : Chantal Arpino.
31. Jean-Michel Scheftel, sujet des Enterobacteries, (2010). sous-titre 5 la famille des Entérobactérie.
32. Kevin M. Krause, Alisa W. Serio , Timothy R. Kane , et Lynn E. Connolly. *Aminoglycosides: An Overview*. 2016. Doi : 10.1101/cshperspect.a027029.
33. KHAYAR Y. *Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline –acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème [thèse de doctorat]*. Rabat: Université Mohammed V de Rabat;2011.
34. KOSSOKO,K. Nadjib.(2014). *Etude de l'antibiorésistance et de la résistance à l'effet bactéricide du sérum humain d'entérobactéries isolées de divers prélèvements biologiques au niveau de l'hôpital FABOR à Blida*. [mémoire de master]. Université de Blida 1.

Références bibliographiques

35. Kotra LP, Haddad J, Mobashery S. 2000. Aminoglycosides: Perspectives sur les mécanismes d'action et de résistance et les stratégies pour contrer la résistance .Agents antimicrobiens Chemother 44 : 3249–3256. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar].
36. Llobet E, Tomas JM, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide is a bacterial decoy for antimicrobial peptides. Microbiology 2008;154:3877—86.
37. LOZNIIEWSKI A., RABAUD C., Nancy. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Juillet 2010
38. MadiSihem et Djema Karima.(2019). Isolement et caractérisation des bactéries multirésistantes impliquées dans les infections nosocomiales et l'environnement hospitalier au niveau de l'hôpital de LAKHDARIA. [thèse de master]. Bouira. Université Akli Mohand Oulhadj.
39. Massota MÉRIL, Bertrand Picarda, Erick Denamur. Diversité des populations d'*Escherichia coli* et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal. REVUE FRANCOPHONEDES LABORATOIRES - NOVEMBRE 2016 - N°486.
40. Mayer, K., Opal, S., and Medeiros, A. 2000. Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition, Churchill Livingstone. 2:236-253.
41. McGeer A., Fleming C. A., Gree K. & Low D. E. (2001). Antimicrobial resistance in Ontario: Are we making progress, Laboratory Proficiency Testing Program Newsletter. 293:1-2.
42. Mellouk Fatma Zohra. (2017). Evaluation de la résistance des bacilles à Gram négatif aux antibiotiques « Bactéries isolées dans l'est algérien ». [thèse de doctorat]. Annaba. Université Badji Mokhtar.
43. Michael Janda et Sharon L. Abbott. (2006). The Genus *Hafnia*: from Soup to Nuts. Vol. 19, No. 1. REVIEWS, Jan. 2006, p. 12–18. Doi : 10.1128/CMR.19.1.12–28.2006.
44. Ministère de la santé et des sports. 2009. Infection nosocomiale. <https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/dossier.pdf>
45. Muylaert, A., Mainil, J, G. 2012. Résistance bactérienne aux antibiotiques : les mécanismes et leur “contagiosité.” Ann. Méd. Vol., 2012, 156, 109- 123.
46. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm. Trends Mol Med. 2012;18:263–272. [PubMed] [Google Scholar].

Références bibliographiques

- 47.OMS. Antimicrobiens d'importance critique pour la médecine humaine. 6e révision 2018.
48. OMS. Résistance aux antibiotiques.31 juillet 2020
- 49.Ould baba ali, Rabia et Taibi, khadidja. (2019). Etude de l'antibiorésistance des souches d'entérobactéries productrice de β -lactamases a spectre étendu (BLSE) isolées à l'hôpital boufarik (mémoire de master). Université Blida 1.
- 50.Pantel Alix. Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez Escherichia coli ST131. [thèse de doctorat]. Médecine humaine et pathologie. Université Mont-pellier, 2015. Français.
- 51.Papp-Wallace K., Endimiani A., Taracila M. & Bonomo R. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55(11):4943-4960.
- 52.Pascale, Lesueur. 2014. Antibiotiques : modes d'action, mécanismes de la résistance. <https://devsante.org/articles/antibiotiques-modes-d-action-mecanismes-de-la-resistance>
- 53.Paul Singleton 2004.traduit de l'anglais par Jean Dusart. *Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies* (6.ed) 2005.
- 54.Pegler S. & Healy B. (2007). In patients allergic to penicillin, consider second and third generation cephalosporins for life threatening infections. *BMJ.* 335(7627): 991.
- 55.Philippon. A. Résistance bactérienne : définitions, mécanismes, évolution.2008 n°10.
- 56.Ramirez MS, Tolmasky ME. 2010. Enzymes modifiant les aminosides. *Drug Resist Updat*13. [Article PMC gratuit] [PubMed] [GoogleScholar]
- 57.Reynaud.A et L. Crémet. (2015) Fiche ANTI-INFECTIEUX Aminoglycosides (aminoglycosides). Association des Enseignants de Microbiologie et d'Immunologie des Facultés de Pharmacie.
- 58.Riethmuller, Jennifer. (2013) La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes. Etude prosoective aux hôpitaux civils de colmar du dépistage avec un milieu sélectif et intérêt de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour le criblage (thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie). Université de Strasbourg.
- 59.Robin, F., Gibold, L., & Bonnet, R. (2012). Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne, *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2012 (445), 47–58. Doi : 10.1016/s1773-035x(12)71676-3
- 60.Ruppé, E. (2010) Epidemiology of expanded-spectrum beta-lactamases: The rise of CTX-M. *Antibiotiques* 12: 3-16.

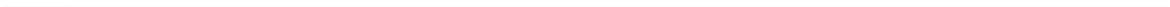
Références bibliographiques

61. Séguy Isabelle et Guido Alfani. LA PESTE : BREF ÉTAT DES CONNAISSANCES ACTUELLES. 2017/2 n° 134 | pages 15 à 38
62. SOMIPEV : société Marocaine d'Infectiologie pédiatrique et de Vaccinologie. (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes
63. Soudi, A. T., Hussein, O. G., Elzanfaly, E. S., Zaazaa, H. E., & Abdelkawy, M. (2020). Simultaneous determination of phenazopyridine HCl and trimethoprim in presence of phenazopyridine HCl impurity by univariate and multivariate spectrophotometric methods - Quantification of phenazopyridine HCl impurity by univariate methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 239, 118516. doi:10.1016/j.saa.2020.118516.
64. Souna Djahida (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. (Mémoire de master). Tlemcen Université Abou Bekr Belkaid.
65. Susana, Correia., Patrícia, Poeta., Michel, Hebraud., José, Luis, Capelo., Gilberto, Igrejas (2017) Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand. *Journal of Medical Microbiology* 2017; 66:551–559 DOI: 10.1099/jmm.0.000475.
66. Talaro K. P. & Chess B. (2008). *Foundations in microbiology*. 8th Ed. McGraw Hill, New York.
67. TERKIA DERDRA, Nadia. (2013). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen pathologiques (MEMOIRE DE MASTER). UNI VERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN.
68. Torres J. A., Villegas M. V. & Quinn J. P. (2007). Current concepts in antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* 5:833-843.
69. TOUDJI Akouétévi Gérard, Bouraïma DJERI, Simplicie Damintoti KAROU, Ségla TIGOSSOU, Yaovi AMEYAPOH et Comlan de SOUZA. 2017. Prévalence des souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi isolées au Togo et de leur sensibilité aux antibiotiques. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i3.19>.
70. Trifi Ahlem, Sami Abdellatif, Mouna Oueslati, Meriem Zribi, Foued Daly, Rochdi Nasri, Rahma Mannai, Chadlia Fandri, Salah Ben Lakhhal. (2017). infections nosocomiales: état des lieux dans un service de réanimation nosocomial infections: current situation in a resuscitation-unit. vol 95 (03).

Références bibliographiques

71. Van Bambeke Françoise, Dr Sc. Pharm. Paul Tulkens, Dr. Méd. 2008. Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse : antibiotiques.
72. Velkov T, Roberts KD, Nation RL, Thompson PE, Li J. Pharmacology of polymyxins: new insights into an ‘old’ class of anti-biotics. *Future Microbiol* 2013;8:711—24.
73. Velkov T, Thompson PE, Nation RL, Li J. Structure — activity relationships of polymyxin antibiotics. *J Med Chem* 2010; 53:1898—916.
74. Verhaegen Jan. Bactériologie (en ligne). p54. disponible sur «<https://www.kuleuven.be/vesaliusonline/UNIKEN%20KONGO.doc> » [consulté le 12/02/2020].
75. Vincent cattoir (2012), quinolones: de l’antibiogramme aux phénotypes de résistance. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - SEPTEMBRE-OCTOBRE 2012 - N° 445
76. Vollmer, W., Blanot, D., De Pedro, M. A. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiology Reviews*. 2008; 32(2):149-167.
77. Xavier Nicolas, Hervé Granier, Patrick Le Guen. Shigellose ou dysenterie bacillaire. *Presse Med*. 2007; 36: 1606–18.
78. YALA.D, A.S. MERAD, D. MOHAMEDI, M.N. OUAR KORICH. RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES. *Médecine du Maghreb* 2001 n°91.
79. YAO KOUAME RENE(2019). CARACTERISATION PHENOTYPIQUE ET MOLECULAIRE DE SALMONELLA SP ET ESCHERICHIA COLI ISOLEES CHEZ LES BOVINS DANS LE DISTRICT D’ABIDJAN (CÔTE D’IVOIRE) : IMPACT BIOLOGIQUE DE L’UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES (THESE Présentée pour l’obtention du Titre de Docteur) l’Université Félix HOUPHOUET BOIGNY) Numéro d’ordre 2208/ 2019
80. Yohei Doi et Yoshichika Arakawa.(2007). 16S Ribosomal RNA Methylation: Emerging Resistance Mechanism against Aminoglycosides.
81. Yu Z, Qin W, Lin J, Fang S, Qiu J. Antibacterial mechanisms of polymyxin and bacterial resistance. *Biomed Res Int* 2015; 2015:679109.

Annexes



Annexe 1 : Préparation du milieu :

➤ Mac Conky :

- Sa préparation :

La préparation de milieu se fait comme suit :

- Sur une plaque chauffante et dans un béciers on mettre en suspension 51g de milieu déshydraté dans un 1 litre d'eau distillé.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constant à l'aide de barreau magnétique et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 1 heure.
- Laisser refroidir à 50°C
- Couler le milieu dans les boites de pétri.



Figure 26 : Préparation du milieu (photos personnelles).



Figure 27: Boite pétri avec gélose macconky (photo personnelle).

- Sa composition :

Gélose Mac Conkey	Composition théorique(en g/l d'eau distillée)
Peptone	20,0 g
Sels biliaires n°3	1,0 g
Cristal violet	0,001 g
Lactose	10,0 g
Rouge neutre	0,05 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar	15,0 g
pH = 7,1	

- Composition de bouillon nutritif :

Bouillon nutritif	Composition théorique(en g/l d'eau distillée)
Chlorure de sodium	5g
Eau distillé	1000ml
Peptone	10g
Extrait de viande	5g
pH = 7,2 -7,4	

- Composition de milieu de culture Muller Hinton :

Muller Hinton(MH)	Composition théorique(en g/l d'eau distillée)
Extrait de viande	2g
Gélose	10g
Amidon	1,5g
Hydrolysate acide de caséine	17,2g
(PH=7,4)	

Annexe 2 : Les Concentrations critiques pour l'interprétation des CMI et des diamètres des zones d'inhibition (CA-SFM) 2018 :

Pénicillines	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
<p>Les Enterobacteriaceae productrices de BLSE sont souvent catégorisées «sensibles» aux pénicillines associées aux inhibiteurs de β-lactamases de classe A (acide clavulanique, tazobactam). Si l'utilisation d'une de ces associations est retenue par le clinicien pour traiter une infection due à une entérobactérie productrice de BLSE, il y a lieu de mesurer la CMI de l'association retenue si l'infection à traiter est autre qu'une infection du tractus urinaire.</p> <p>Catégoriser «intermédiaire» l'isolat clinique catégorisé «sensible» à la pipéracilline alors qu'il est catégorisé «résistant» ou «intermédiaire» à la ticarcilline (EUCAST expert rules v. 2.0, règle 9.3 de grade C). Les β-lactamases hydrolysant la ticarcilline hydrolysent également la pipéracilline, mais la résistance peut être moins évidente si l'expression de la β-lactamase est faible (principalement observée chez <i>Klebsiella</i> spp. et <i>E. coli</i>). Cette règle ne s'applique pas aux associations pénicillines-inhibiteurs de β-lactamases.</p> <p>Pour <i>Proteus mirabilis</i>, catégoriser «intermédiaire» un isolat clinique apparaissant «sensible» à la ticarcilline et/ou «sensible» à la pipéracilline alors qu'il est catégorisé «résistant» aux aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline) et sensible ou intermédiaire à l'amoxicilline-acide clavulanique.</p> <p>Cette règle ne s'applique pas au <i>Proteus mirabilis</i> producteurs de céphalosporine plasmidique.</p>						
Ampicilline	8 ¹	8	10	14 ^{A,B}	14 ^{A,B}	1/A. Les souches sauvages d'entérobactéries du groupe I (<i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp.) sont sensibles à l'amoxicilline. B. Ignorer la pousse fine dans la zone d'inhibition.
Ampicilline-sulbactam	8 ²	8 ²	10-10	14 ^B	14 ^B	2. Pour évaluer la sensibilité, la concentration en sulbactam est fixée à 4 mg/L.
Amoxicilline	8 ¹	8 ¹	20	19 ^{A,B}	19 ^{A,B}	
Amoxicilline-acide clavulanique	8 ³	8 ³	20-10	19 ^B	19 ^B	3. Pour évaluer la sensibilité, la concentration d'acide clavulanique est fixée à 2 mg/L.
Amoxicilline-acide clavulanique (cystites)	32 ³	32 ³	20-10	16 ^B	16 ^B	
Pipéracilline	8	16	30	20	17	
Pipéracilline-tazobactam	8 ⁴	16 ⁴	30-6	20	17	4. Pour évaluer la sensibilité, la concentration du tazobactam est fixée à 4 mg/L.
Ticarcilline	8	16	75	23	20	
Ticarcilline-acide clavulanique	8 ³	16 ³	75-10	23	20	
Mécillinam (cystites)	8	8	10	15 ^C	15 ^C	C. Ignorer les colonies situées dans la zone d'inhibition pour les isolats de l'espèce <i>E. coli</i> .
Témocilline	8	8	30	20	20	Il est recommandé d'utiliser une posologie minimale de 2g x 2/jour.

Céphalosporines	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Céfador	-	-		-	-	
Céfadoxil (cystites)	16	16	30	12	12	
Céfalexine (cystites)	16	16	30	14	14	
Céfazoline	-	-		-	-	
Céfépime	1	4	30	27	21	
Céfixime (cystites)	1	1	5	17	17	
Céfixime-acide clavulanique ¹ (cystites)	1	1	5-10	17	17	1. Pour la mesure de la CMI, la concentration de l'acide clavulanique est de 2 mg/L.
Céfotaxime	1	2	5	20	17	
Céfoxitine	8	16	30	19	15	
Céfoxitine (dépistage) ²	NA	NA	30	19	19	2. Le seuil épidémiologique (ECOFF) de la céfoxitine (isolat sauvage ≤ 8 mg/L) a une haute sensibilité mais une faible spécificité pour la détection des Enterobacteriaceae produisant une céphalosporinase (AmpC), car l'activité de cet antibiotique est aussi affectée par les altérations de perméabilité.
Cefpodoxime (cystites)	1	1	10	21	21	
Ceftaroline	0,5	0,5	5	23	23	
Ceftobiprole	0,25	0,25	5	23	23	
Ceftotolozane-tazobactam	1	1	30-10	23	23	Les concentrations critiques sont établies à partir du Ceftolozane. Pour évaluer la sensibilité, la concentration du tazobactam est fixée à 4 mg/L.
Ceftazidime	1	4	10	22	19	
Ceftazidime-avibactam ³	8	8	10-4	13	13	3. Pour la mesure de la CMI, la concentration de l'avibactam est de 4 mg/L.
Ceftibuten (cystites)	1	1	30	23	23	
Ceftriaxone	1	2	30	25	22	
Céfuroxime iv	8 ⁴	8	30	19	19	4. Les concentrations critiques sont en lien avec une posologie de 1,5 g 3 fois par jour pour les espèces <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> et <i>Klebsiella</i> spp. seulement.
Céfuroxime oral (cystites)	8	8	30	19	19	

Carbapénèmes	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
<p>Les concentrations critiques des carbapénèmes ont été définies de sorte que les isolats cliniques producteurs de mécanismes de résistance importants sur le plan clinique incluant la majorité des carbapénémases chez les Enterobacteriaceae sont catégorisés «intermédiaires» ou «résistants» à ces molécules. Toutefois, certains isolats d'entérobactéries producteurs de carbapénémases (EPC) sont catégorisés «sensibles» aux carbapénèmes et doivent être rapportés comme tels ; la présence d'une carbapénémase n'interfère pas sur la catégorisation de ces EPC. La détection des carbapénémases est cependant recommandée sur le plan épidémiologique pour surveiller et contrôler leur diffusion.</p> <p>Il faut donc considérer comme SUSPECTE d'EPC toute souche de SENSIBILITE DIMINUEE (I/R) à au moins l'une des carbapénèmes. La détection des EPC par de simples tests phénotypiques n'est pas aisée car le niveau de résistance aux carbapénèmes est variable et peut parfois être à la limite du seuil de sensibilité. L'ertapénème est le carbapénème qui possède la meilleure sensibilité pour la détection des EPC. Ainsi, toute souche possédant une diminution de sensibilité à l'ertapénème [CMI > 0,5 mg/L ou un diamètre d'inhibition (disque 10 µg/ml) < 28 mm (CASFM-2013) ou < 25 mm (CASFM 2015)] par test de diffusion en gélose peut être soumise à l'algorithme de screening des souches productrices de carbapénémase (annexe 2).</p> <p>Les souches suspectes d'EPC selon cet algorithme doivent être soumises à un test de confirmation de production de carbapénémase.</p> <p>Parmi les tests de confirmation, le Hodge test (CASFM-2013) n'est plus recommandé car difficile à standardiser : présence de faux-positifs et de faux-négatifs. Parmi les autres tests de confirmations, actuellement disponibles certains, parmi lesquels des tests enzymatiques, peuvent présenter des problèmes de sensibilité (non détection des OXA-48-like qui sont les carbapénémases les plus fréquentes en France).</p>						
Ertapénème	0,5	1	10	25 ^A	22 ^A	A. Déterminer la CMI de l'ertapénème en cas de résistance à l'ertapénème selon la méthode de diffusion en gélose.
Imipénème ¹	2	8	10	22	16	1. Un bas niveau de résistance est commun aux espèces <i>Morganella</i> spp., <i>Proteus</i> spp. et <i>Providencia</i> spp.
Méropénème	2	8	10	22	16	

Monobactames	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Aztréonam ¹	1	4	30	26	21	1. Les concentrations critiques de l'aztréonam ont été définies de sorte que les isolats cliniques d'entérobactéries producteurs de mécanismes de résistance importants, incluant les BLSE, sont catégorisés «intermédiaires» ou «résistants». Toutefois certains isolats d'entérobactéries qui produisent des BLSE sont catégorisés «sensibles» à l'aztréonam et doivent être rapportés comme tels ; la présence d'une BLSE n'interfère pas sur la catégorisation de ces isolats cliniques. La détection des BLSE est cependant recommandée sur le plan épidémiologique pour surveiller et contrôler leur diffusion.

Annexe 3: Tableau d'identification du catalogue analytique API 20E

TABLEAU D'IDENTIFICATION / IDENTIFICATION TABLE / PROZENTABELLE / TABLA DE IDENTIFICACION / TABELLA DI IDENTIFICAZIONE / QUADRO DE IDENTIFICACAO
ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ / IDENTIFIKATIONSTABEL / IDENTIFIERINGSSTABEL / TABELA IDENTYFIKACYJNA

% de reações positivas após 18-24 / 48 h a 36°C ± 2°C / % of positive reactions after 18-24 / 48 hrs. at 36°C ± 2°C / % der positiven Reaktionen nach 18-24 / 48 h bei 36°C ± 2°C /
 % de las reacciones positivas después de 18-24 / 48 h a 36°C ± 2°C / % di reazioni positive dopo 18-24 / 48 ore a 36°C ± 2°C / % de reacções positivas após 18-24 / 48 h a 36°C ± 2°C /
 % θετικών αντιδράσεων μετά από 18-24 / 48 ώρες στους 36°C ± 2°C / % di pozitivni reakcije efter 18-24 / 48 timmar vid 36°C ± 2°C / % af positive reaktioner efter 18-24 / 48 timer ved 36°C ± 2°C /
 % pozytywnych reakcji po 18-24 / 48 godzinach w 36°C ± 2°C

API 20 E	V4.1	ONPG	ADH	LDC	DOC	GT	H2S	URE	TCA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	NO	SOR	SHA	SAC	LIEL	ALY	ARA	OX	N2	N2	UCS	UCS	OFD	OFF
<i>Burkholderia agrestis</i>	100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	32	99	100	0	100	0	100	100	100	100
<i>Ceclorhiza agrestis</i>	99	89	0	99	75	0	0	0	0	0	99	0	100	100	10	0	0	100	0	100	1	0	99	0	87	100	100	100
<i>Ceclorhiza agrestis</i>	99	99	0	0	75	0	0	0	0	0	90	0	100	99	0	0	0	0	1	100	1	0	99	0	87	100	100	100
<i>Citrobacter brasili</i>	50	45	0	99	75	81	1	0	0	4	0	0	100	100	1	100	100	1	91	99	99	0	100	0	95	100	100	100
<i>Citrobacter freundii</i>	99	24	0	0	75	75	1	0	0	0	0	0	100	99	25	99	99	99	82	40	99	0	98	0	95	100	100	100
<i>Citrobacter koseri/leptothelcus</i>	99	75	0	100	97	0	1	0	0	99	0	0	100	100	25	99	99	1	1	99	99	0	100	0	95	100	100	100
<i>Citrobacter kozoi/fennellii</i>	99	2	0	100	25	0	0	0	0	99	0	0	100	100	1	99	99	99	80	99	99	0	100	0	95	100	100	100
<i>Citrobacter youngae</i>	100	50	0	1	80	80	0	0	0	1	0	0	100	100	0	95	100	1	0	25	100	0	85	0	95	100	100	100
<i>Edwardsiella histolytica</i>	0	0	100	99	99	94	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	1	100	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100
<i>Edwardsiella tarda</i>	0	0	100	99	1	75	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	98	100	100	100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	99	0	99	98	62	0	1	0	0	95	0	0	99	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	97	100	100	100
<i>Enterobacter amnigenus</i> 1	99	25	0	99	40	0	0	0	0	75	0	0	100	100	0	1	100	99	99	99	99	0	100	0	92	100	100	100
<i>Enterobacter amnigenus</i> 2	99	80	0	99	80	0	0	0	0	75	0	0	100	100	0	99	100	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
<i>Enterobacter asburiae</i>	100	25	0	99	80	0	0	0	0	0	10	0	100	99	25	100	0	99	0	100	100	0	100	0	95	100	100	100
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	100	75	0	99	99	0	0	0	0	85	0	0	100	100	0	1	100	1	1	100	100	0	100	0	99	100	100	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	98	82	1	92	90	0	1	0	0	85	0	0	99	99	12	90	85	96	50	99	99	0	100	0	95	100	100	100
<i>Enterobacter gergoviae</i>	99	0	32	100	75	0	99	0	0	90	0	0	100	99	23	81	100	99	100	99	100	0	100	0	90	100	100	100
<i>Enterobacter intermedius</i>	99	0	0	95	11	0	0	0	0	2	0	0	100	97	0	88	99	100	99	99	99	0	100	0	92	100	100	100
<i>Enterobacter sakazakii</i>	100	96	0	91	94	0	1	0	0	25	91	10	100	100	75	8	99	99	99	99	99	0	100	0	96	100	100	100
<i>Escherichia coli</i> 1	90	1	74	70	0	1	3	0	0	89	0	0	99	98	1	91	82	36	75	3	99	0	100	0	95	100	100	100
<i>Escherichia coli</i> 2	26	1	45	20	0	1	1	0	0	99	0	0	99	90	1	42	30	3	3	1	70	0	98	0	5	100	100	100
<i>Escherichia fergusonii</i>	96	1	99	100	1	0	0	0	0	99	0	0	100	99	1	0	87	0	1	99	99	0	100	0	93	100	100	100
<i>Escherichia hemmansi</i>	100	0	1	100	1	0	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	99	25	0	99	99	0	100	0	99	100	100	100
<i>Escherichia vulnificus</i>	100	90	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99	0	100	0	100	100	100	100
<i>Escherichia yersiniae</i>	98	0	0	0	75	0	0	0	0	95	1	99	99	99	0	0	0	1	0	0	1	0	100	0	90	100	100	100
<i>Haemophilus alvei</i> 1	75	0	99	98	50	0	10	0	0	90	0	0	99	99	0	1	99	0	0	25	99	0	100	0	85	100	100	100
<i>Haemophilus alvei</i> 2	90	0	99	99	1	0	1	0	0	10	0	0	99	98	0	1	1	0	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100
<i>Klebsiella oxytoca</i>	99	0	80	0	85	0	78	0	0	99	80	0	100	100	99	100	99	99	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>ozonea</i>	94	18	25	1	15	0	1	0	0	0	0	0	99	96	57	99	53	20	80	97	95	0	99	0	0	100	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>pneumoniae</i>	99	0	78	0	68	0	72	0	0	90	0	0	100	96	95	99	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>rhinoscleromatis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	90	75	75	1	99	10	0	100	0	100	100	100	100
<i>Kluyvera</i> spp.	95	0	25	99	80	0	0	0	0	80	0	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99	0	95	0	94	100	100	100
<i>Lacteria edocarbolyata</i>	99	0	0	0	0	0	1	0	0	99	0	1	100	99	0	2	100	66	99	99	100	0	100	0	100	100	100	100
<i>Moraxella viscosissima</i>	97	0	0	0	40	0	0	0	0	15	1	0	100	1	0	0	0	100	99	0	0	0	90	0	0	100	100	100
<i>Morganella morganii</i>	100	0	10	98	1	99	99	99	0	0	0	0	99	0	0	0	0	1	0	0	0	0	98	0	95	100	100	100
<i>Pantoea</i> spp. 1	95	1	0	0	13	0	1	0	0	9	1	0	100	99	1	26	1	99	25	99	81	81	0	100	0	85	100	100
<i>Pantoea</i> spp. 2	99	1	0	0	99	0	1	0	0	53	62	4	100	99	36	82	90	98	81	99	99	0	85	0	85	100	100	100
<i>Pantoea</i> spp. 3	99	1	0	0	21	0	1	0	1	86	15	10	99	99	34	1	97	93	23	65	97	0	85	0	85	100	100	100
<i>Pantoea</i> spp. 4	86	1	0	0	29	0	1	0	0	59	1	1	99	100	10	32	99	72	89	99	99	0	85	0	85	100	100	100
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0	0	99	50	75	99	98	1	1	82	98	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	93	0	95	100	100	100
<i>Proteus penneri</i>	1	0	0	0	1	20	100	99	0	0	0	0	99	0	0	0	0	100	0	1	0	0	99	0	85	100	100	100
<i>Proteus vulgaris</i> group	1	0	0	0	12	83	99	99	92	0	74	99	1	1	1	0	1	83	0	88	1	0	100	0	94	100	100	100
<i>Providencia stuartii</i>	0	0	0	0	80	0	0	0	0	100	99	0	0	99	1	1	0	0	1	0	0	0	100	0	96	100	100	100
<i>Providencia rettgeri</i>	1	1	0	0	74	0	99	99	90	0	0	0	98	82	78	1	50	25	0	40	1	0	98	0	94	100	100	100
<i>Providencia stuartii</i>	1	0	0	0	85	0	98	95	0	0	0	0	98	3	80	0	15	0	0	0	0	0	100	0	85	100	100	100
<i>Rahnella aquatica</i>	100	0	0	0	50	0	0	1	0	99	0	0	100	100	0	98	99	100	97	100	98	0	100	0	6	100	100	100
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	100	0	99	99	99	0	85	0	100	95	0	0	100	100	99	100	100	100	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100
<i>Raoultella temperans</i>	100	0	99	99	99	0	85	0	100	95	0	0	100	99	99	99	99	100	100	100	99	0	100	0	100	100	100	100
<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp. <i>anatum</i>	98	75																										

